



HAL
open science

Attention et positivisme au cœur du bien-être chez le cheval

Mathilde Stomp

► **To cite this version:**

Mathilde Stomp. Attention et positivisme au cœur du bien-être chez le cheval. Biologie animale. Université de Rennes, 2018. Français. NNT : 2018REN1B061 . tel-02148601

HAL Id: tel-02148601

<https://theses.hal.science/tel-02148601>

Submitted on 5 Jun 2019

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.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE RENNES 1
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 605
Biologie Santé
Spécialité : *Neurosciences, Ethologie*

Par

Mathilde STOMP

Attention et positivisme au cœur du bien-être chez le cheval

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 18 décembre 2018
Unité de recherche : UMR 6552

Rapporteurs avant soutenance :

Alain Boissy Directeur de recherche, INRA Clermont-Ferrand, Theix
Jan Langbein Professeur, Institut de Leibniz-Dummerstorf

Composition du Jury :

Président :	David Val-Laillet	Directeur de recherche, INRA Saint-Gilles
Examineurs :	Elke Zimmermann	Professeure, Université d'Hanovre
Dir. de thèse :	Martine Hausberger	Directrice de recherche, Université de Rennes 1
Co-dir. de thèse :	Séverine Henry	Maître de conférence, Université de Rennes 1

Invité(s)

Françoise Clement Directrice scientifique, Institut français du cheval et de l'équitation

« Rien n'est plus sérieux que le plaisir »

Jean Cocteau

Remerciements

Une thèse est avant tout un travail d'équipe. Je tiens donc à remercier ici toutes les personnes qui ont contribué à l'émergence de ces travaux.

Tout d'abord je tenais à remercier sincèrement mes co-directrices de thèse, Martine Hausberger et Séverine Henry. Merci Martine pour votre soutien jusqu'aux derniers instants, votre optimisme sans faille. Merci pour m'avoir généreusement transmis vos connaissances. Merci pour toutes ces discussions enrichissantes, j'ai vraiment énormément appris à vos côtés. Merci aussi de m'avoir encouragée et aidée à diffuser les différents résultats, tant dans des papiers que des congrès, tout au long de ces trois ans. Merci Séverine pour ton soutien, ta joie de vivre, pour ta Wonder Woman attitude ! Merci pour tes idées et remarques toujours très pertinentes.

Merci à Alain Boissy et Jan Langbein de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de ce travail. Je remercie également Elke Zimmermann et David Val-Laillet, pour leur investissement dans l'évaluation de ces recherches. Je remercie aussi Françoise Clément d'avoir accepté de siéger dans mon jury en tant que membre invité.

Je tiens à remercier l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation ainsi que le Fond Eperon, pour avoir soutenu l'ensemble de ce projet par le biais d'appels d'offre annuels.

Je remercie tous les membres de mes comités de thèse, Gwenola Touzot-Jourde, Marc Vérin, Françoise Clément et Yvan Lagadeuc. Merci pour vos discussions et vos conseils. Merci à Yvan Lagadeuc d'avoir été mon tuteur de thèse.

J'adresse toute ma reconnaissance à Stéphane Gicqueau pour nous avoir ouvert les portes de son établissement à plusieurs reprises. Merci pour toute votre attention et votre intérêt envers nos recherches. Merci également à Laura et Nicolas pour votre gentillesse. Je remercie aussi Isabelle Bernadet et sa fille Marine pour leur accueil au sein de leur établissement.

Je tenais à remercier aussi chaleureusement tout le personnel de la station expérimentale de Chamberet. Comment oublier cette station perdue au milieu de la Corrèze ! Merci à Laurence Wimel, directrice de la station, pour son accueil. Merci à Cédric pour avoir supervisé la mise en place de mes expérimentations, pour être monté à l'échelle pour installer ces foutues caméras, pour ta grande implication tout au long de notre séjour, pour ton humour. Merci à Laetitia, Anne, Clara, Thomas, Guillaume (je n'oublierai jamais le tour en tracteur façon l'amour est dans le pré...) et Joseph pour leur aide précieuse et leur grande gentillesse et sympathie. Merci pour les apéros au lac, les soirées de fin de semaine. Merci Tristan pour ta compagnie et nos parties de cartes endiablées de Roi des Nains... (je crois bien qu'au final t'auras jamais réussi à gagner non ???).

Merci à Anne Aupiais de l'IDELE pour sa collaboration et pour nous avoir gracieusement prêté les accéléromètres et l'ensemble du matériel y étant associé.

Merci à toutes les personnes de la station biologique de Paimpont, vous faites de cette station de recherche un lieu enchanté (enfin, sauf quand il fait moins 10 dans les bureaux en octobre...) où il fait réellement bon travailler.

Je remercie les membres du laboratoire et de la station, rennais et paimpontais, enseignants et chercheurs, étudiants et techniciens. Merci Alban pour m'avoir grandement accompagné dans le traitement et l'analyse des ébrouements, merci pour votre soutien et vos suggestions et réflexions toujours très pertinentes. Merci Hugo pour toute ton implication autour de l'EEG et de tout ce qui va avec... (Jean Michel à peu près, si tu m'écoutes). Merci de m'avoir accompagné sur le terrain. Merci à Hervé, ainsi qu'à Philippe pour tous les soins apportés aux chevaux. Merci Hervé pour ton aide pour monter des ronds de longe à -10°C... Merci à Stéphane pour avoir rapidement conçu le dispositif original de l'expérimentation attention sur écran. Merci Caroline pour toute ton implication et le soin porté au matériel. Merci à Géraldine

et Antoine pour leur précieuse aide administrative. Merci à Véronique pour son aide concernant l'informatique.

J'ai évidemment une pensée particulière pour tous les doctorants et ATER du laboratoire. Camille et Céline (les vieilles !), vous avez été de réels modèles pour moi, vous êtes des battantes qui m'ont donné la motivation d'avancer. Merci Céline, sincèrement, pour tout ton soutien, tes conseils précieux (à tous les niveaux...), pour tous ces moments où tu m'auras fait rire avec tes expressions super classes. Merci Alice pour ta zen attitude quoi qu'il arrive, c'était vraiment chouette de partager le bureau avec toi ! Merci Vanessa, ou devrais-je plutôt dire « croquettas girl », pour avoir été autant présente. Merci pour toutes ces longues discussions, tous nos fous rires. J'attends avec impatience le prochain restau ! Merci Nicolas pour tous ces moments de rigolades (par contre, 60 km de vélo en une demi-journée, plus jamais tu m'entends !). Grazie mille Serenella pour m'avoir aidé sur le terrain. L'EEG n'a désormais plus aucun secret pour nous ! Merci pour ton sourire et ta bonne humeur. Merci à Morgane, Juliette, Loïc, Amélie et la petite dernière Noémie pour m'avoir supporté dans le bureau durant toutes ces semaines. Merci pour votre écoute et vos encouragements. Force et courage pour la suite !

J'adresse un énorme merci à tous mes stagiaires qui ont fortement contribué à la genèse de ce travail. Merci à Azélie, Claire, Alexia, Sophia, Roxane (ces moments à Chamberet resteront à jamais gravés dans ma mémoire) and the last but not the least... Maël. Merci petit Maelichou pour tous ces bons moments, nos fous rires sur le terrain et à tout moment d'ailleurs, merci pour tout ton soutien et ta joie de vivre sans pareil. Je suis très fière que tu aies été mon premier stagiaire et encore plus fière de tout ce que tu es en train d'accomplir. J'ai hâte d'assister à ta soutenance de thèse !

Merci Lola pour ta super bonne humeur et toutes nos petites pauses qui m'ont permis de souffler quand il le fallait. C'était génial de t'avoir au labo quelque temps !

Merci Clémence pour tout le travail que tu auras fourni dans ces derniers instants si importants, merci pour ta gentille et ta bonne humeur. J'étais ravie de te découvrir et de passer ces dernières semaines à tes côtés.

Marine, je tenais sincèrement à te remercier pour, ben...à peu près tout. Cette thèse n'aurait pas eu la même saveur sans toi. Merci pour ton écoute, tes précieux conseils, tes noooooombreux encouragements du début à la fin, pour tous nos moments de bitchage (oui ce mot existe définitivement), pour tous ces footing qui m'auront revigorés, pour toutes ces soirées jeux. Un grand merci pour tes relectures et ta passion pour cette merveilleuse science qu'est l'éthologie.

Merci à tous les chevaux que j'ai eu la chance d'étudier au cours de ce travail.

Merci aux drôles de Dames (Aline, Marine et Séverine) pour ces soirées filles qui auront enchantés mes week-ends !

Merci Anthony pour tes bons petits plats, ton pain irlandais (un jour je trouverai la recette !), ta grande gentillesse et pour avoir fait en sorte que toutes mes énergies soient au taquet pour la dernière ligne droite.

Merci Jess pour toutes ces années d'amitié (je n'ose même plus compter maintenant...), pour toutes tes attentions et tes encouragements, pour être là tout simplement depuis si longtemps.

Merci aux deux bella bordelaises (Manon et Alexia) d'avoir toujours été là. Vos messages m'ont toujours remonté le moral et encouragé à continuer, même dans les moments délicats.

Merci ma petite Hélène pour nos petits week-ends et tous ces moments passés ensemble qui m'auront boosté et redonné le sourire bien comme il faut (love Hugues)! Merci ma Lolo pour toutes tes pensées, pour avoir enflammé le dance floor avec moi et pour ta « venere attitute » qui me fait tant rire ! Merci à mon soleil du pays basque, Julie la boomba, pour avoir été si présente tout au long de cette thèse, merci d'avoir écouté toutes mes galères.

Merci à toute ma famille pour votre soutien inconditionnel. Merci à mes parents pour tout ce que vous m'avez transmis, votre éducation, vos valeurs. Merci d'avoir toujours cru en moi et m'avoir soutenu dans tous mes projets quoi qu'il arrive. Je n'aurai pas pu rêver mieux. Merci Sist*** (un peu trop niais pour apparaître dans une thèse quand même...) pour avoir été là, à chaque moment, et pour tout ce que tu m'apportes dans la vie. Je suis si chanceuse d'avoir une sœur comme toi.

Enfin, merci à l'homme incroyable qui partage ma vie. Merci pour toute la joie que tu m'apportes. La vie est bien plus belle à tes côtés.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION GENERALE	2
1) L'étude des émotions.....	2
1.1 Définitions et théories	2
1.2 Les émotions positives	5
2) Mesure des émotions positives	12
2.1 Un défi majeur.....	12
2.2 Des propositions d'indicateurs : perspectives et ambiguïtés.....	14
3) Problématique et objectif de la recherche	24
3.1 Problématique.....	24
3.2 Choix du modèle biologique.....	25
3.3 Objectifs de l'étude	30
2. METHODOLOGIE GENERALE.....	34
1) L'espèce cheval	34
1.1 Statut phylogénétique	34
1.2 Evolution et répartition géographique.....	34
1.3 Caractéristiques de l'espèce en milieu naturel	36
1.4 Le cheval en condition domestique.....	40
2) Méthode.....	51
2.1 Animaux et sites d'étude.....	51
2.2 Méthode de travail	57
3. Les comportements d'anticipation	78
INTRODUCTION	78
Synthèse de l'article 1	89
The influence of feeding schedule on horses' activity: evidence from accelerometers.....	90
Synthèse de l'article 2	106
Are anticipatory behaviours reliable indicators of positive emotions? A study in domestic horses	107
DISCUSSION	126
4. Attention et état interne	138
INTRODUCTION	138
Synthèse de l'article 3	142
EEG profiles reflect perceived valence of visual stimuli in horses	143
Synthèse de l'article 4	166
Effects of human audience and welfare state on horses' visual attentional characteristics.....	167

DISCUSSION	203
5. Ebrouement et état interne	208
INTRODUCTION	208
Synthèse de l'article 5	212
An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses	213
Synthèse de l'article 6	238
Snort structure codes for positive emotions in horses	239
Synthèse de l'article 7	252
Could snorts inform us on how horses perceive riding?	253
DISCUSSION	272
6. Discussion générale	278
1) Remise en cause des comportements d'anticipation	279
2) Emergence d'indicateurs fiables d'émotions positives.....	284
3) De nombreuses applications.....	288
4) Perspectives	291
Bibliographie.....	294
Annexes.....	339
ANNEXE 1	340
Un indicateur acoustique d'émotion positive inattendu chez le cheval ?	340
ANNEXE 2	354
Cognition and welfare in horses: a review	354
Figures captions.....	404
ANNEXE 3.....	408
Bilan professionnel	408

Chapitre 1

Introduction



1. INTRODUCTION GENERALE

1) L'étude des émotions

1.1 Définitions et théories

“Tout le monde sait ce qu'est une émotion, jusqu'à ce qu'on en demande une définition. Alors, il semble que plus personne ne sache.” (Fehr et Russell, 1984).

A première vue, il est vrai que définir une expérience émotionnelle subjective chez l'animal apparaît délicat, les animaux étant dépourvus de langage. Cependant, de nombreux travaux conduits en psychologie ainsi qu'en neurobiologie humaine ont permis de mieux comprendre et appréhender les émotions, notamment grâce à l'utilisation d'auto-évaluations linguistiques. Le terme émotion, du latin *ex movere*, se traduisant littéralement comme « mouvement en dehors », désigne le fait de « sortir de son état normal ». Une émotion est définie comme une réponse affective de courte durée à un évènement, qui se traduit par des changements corporels spécifiques. Cependant, il n'existe pas de réel consensus quant à la durée d'un état émotionnel qui, selon Verduyn et al. (2011), peut durer de quelques secondes à plusieurs heures et se termine lorsque l'intensité de la réponse émotionnelle revient au niveau de base. Depuis l'Antiquité et la théorie de la scission du corps et de l'esprit proposée par Platon ou encore Aristote et plus tard l'époque du « behaviourisme », les émotions ont été longtemps mises de côté et considérées comme un dysfonctionnement de l'organisme (Duffy, 1941). D'après Darwin (1872), qui tout au long de son ouvrage décrit des traits émotionnels universels communs à l'Homme et aux animaux, les émotions joueraient un rôle majeur dans la communication aussi bien intra qu'inter spécifique. Étonnement, si Darwin ne mentionne à aucun moment leur aspect adaptatif, il est aujourd'hui communément admis dans la littérature que les émotions permettraient également de guider les actions de l'individu afin de protéger

l'organisme et augmenter ses chances de survie (Broom, 1998; Fredrickson, 1998; Nesse, 1990).

Différentes approches ont été utilisées jusqu'à présent pour décrire et étudier les émotions. En effet, certains auteurs insistent davantage sur leur classification (*e.g.* Plutchik, 1980), les circuits neuronaux en jeu (*e.g.* Ekman, 1984), ou bien alors abordent les différentes composantes qui les définissent (*e.g.* Dantzer, 1988). Deux types de classifications s'opposent : d'une part la théorie des émotions discrètes suppose qu'il existe un nombre limité d'émotions dites « basiques » (*i.e.* joie, tristesse, peur, colère, dégoût, surprise), et que chacune d'elle correspond à un profil unique en terme d'expérience subjective, de physiologie et de comportement (*e.g.* expressions faciales, Fig.1) (Ekman, 1984; Panksepp, 2007; Plutchik, 1980, Fig.2). D'autre part, la théorie dimensionnelle des émotions propose qu'une émotion puisse être localisée dans un espace dimensionnel composé de deux axes : l'un défini par la valence (positive/négative) l'autre par l'intensité (haute/faible) de l'émotion (Carver, 2001; Russell et Barrett, 1999; Watson et al., 1999). Selon Lang (1969), un troisième axe est défini par la dominance.



Figure 1 : Les expressions faciales exprimées selon les six émotions basiques proposées par Ekman (1984).

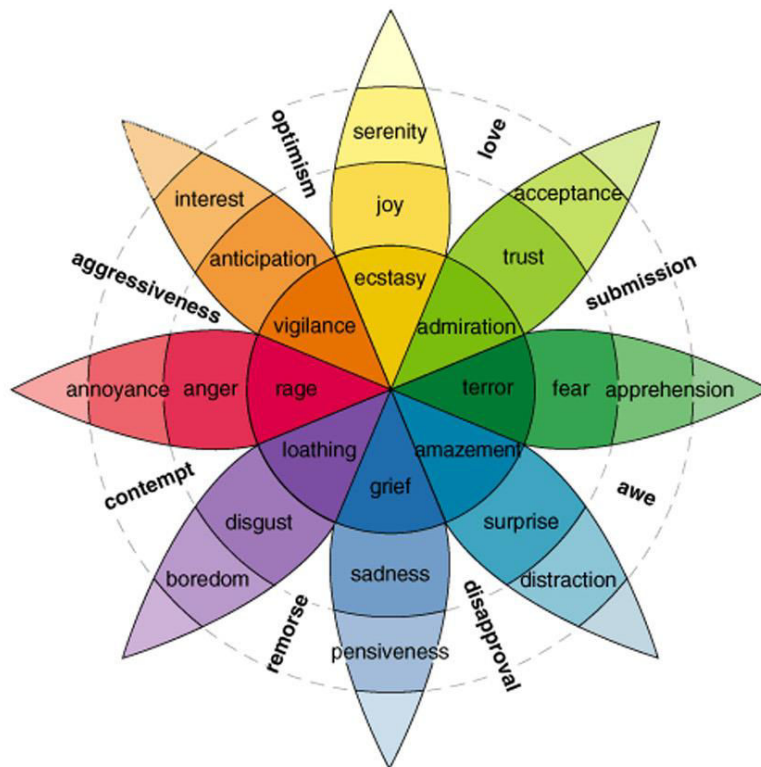


Figure 2 : *Modèle multidimensionnel des émotions proposé par Plutchik (1980), construit à partir de 8 émotions basiques : la joie, la tristesse, la colère, le dégoût, la peur, la surprise, l'anticipation et la confiance. Un mélange entre ces émotions primaires peut aboutir à des émotions secondaires, voire tertiaires.*

Une émotion peut être décrite par trois composantes principales : une composante subjective (*i.e.* l'expérience émotionnelle ressentie par l'individu), et deux composantes expressives, l'une motrice (*i.e.* le comportement et la posture adoptés par l'individu), et l'autre physiologique (*i.e.* la réponse de l'organisme) (Dantzer, 1988). L'expérience subjective d'une émotion peut être évaluée sur la simple base d'informations perceptuelles, mais peut aussi être traitée de façon cognitive plus complexe (Mendl et Paul, 2004; Nesse, 1990; Paul et al., 2005). D'après Scherer (1987, 2005), l'émergence d'une émotion est toujours liée à un objet identifiable, d'origine externe ou interne (*e.g.* un souvenir), qui stimule l'organisme à produire une réponse après en avoir évalué sa signification. En effet, pour qu'un évènement provoque une émotion, il faut qu'il soit jugé pertinent par l'individu. Cette évaluation réalisée par

l'individu consiste à attribuer une signification émotionnelle au stimulus afin de déterminer une réponse appropriée (*e.g.* approcher ou fuir) (Ellsworth, 1991; Frijda, 1987; Lazarus, 1991a). Ainsi, ce traitement cognitif déterminerait la qualité d'une émotion (Frijda, 1987; Lazarus, 1991b; Scherer, 1999, 1984), permettant à l'individu de produire une réponse émotionnelle adaptée dans le but d'agir au mieux face à un évènement et augmenter sa fitness (Nesse, 1990). Seulement, l'hypothèse que les animaux soient complètement conscients et capables de cognitivement appréhender leurs émotions est encore débattue par la communauté scientifique (*e.g.* Forgas, 2000; Lane et al., 2000; Dawkins, 2001; Panksepp, 2003), et pour certains auteurs, seules les émotions basiques/primaires seraient présentes (Damasio, 2000; Gray, 1999; LeDoux et Bemporad, 1997). Cependant, des études ont montré que les animaux partageaient avec l'Homme les mêmes bases neurobiologiques responsables des émotions (Désiré et al., 2002). Par ailleurs, plusieurs travaux ont pu mettre en évidence chez l'animal des parallèles fonctionnels avec les mécanismes de traitement cognitifs conscients chez l'Homme (Broom, 2010; Mendl et Paul, 2004). Ces différentes preuves laissent ainsi supposer qu'il soit fort probable que les animaux ressentent les émotions, qu'elles soient positives ou négatives, de la même manière que nous (Boissy et al., 2007b). Rollin (1989) souligne d'ailleurs le paradoxe suivant : « les scientifiques sont réticents à l'idée d'attribuer des états mentaux aux animaux tels que la capacité à ressentir la peur, l'anxiété ou la souffrance, mais en même temps des travaux considérables sont menés dans le but de tenter de stopper la souffrance ou réduire l'anxiété chez l'animal ».

1.2 Les émotions positives

Pourquoi favoriser l'expression d'émotions positives ?

“Comme un poisson qui n'est pas conscient de l'eau dans laquelle il nage, les gens prennent pour acquis un certain niveau d'espoir, d'amour, de joie et de confiance car ce sont ces conditions mêmes qui leur permettent de continuer à vivre" (Seligman et Csikszentmihalyi,

2000). A travers cette phrase, les auteurs soulignent à la fois l'importance des émotions positives pour la survie de l'individu, mais aussi sous entendent à quel point ces émotions sont sous estimées. Et c'est en effet le cas. Pourtant, les émotions positives sont source d'amélioration à plusieurs niveaux, et plusieurs études ont déjà démontré par exemple des effets significatifs d'une thérapie par le rire sur la santé chez l'Homme (*e.g.* Diener et Chan, 2011; Erdman, 1994; Martin, 2002; Nasir et al., 2005). Chez l'animal aussi, l'induction d'émotions positives semble avoir un intérêt majeur, notamment lorsque l'on s'intéresse aux animaux domestiques. Et ceci est vrai, que ce soit du point de vue de l'Homme, de l'animal ou de leurs interactions.

Un rétablissement plus rapide chez des porcs soumis à une biopsie a par exemple été démontré à la suite de la mise en place d'enrichissements basés sur des tâches cognitives récompensées en cas de succès (Ernst et al., 2006). De même, une expérience menée chez des rats déprimés et affichant des signes d'anhédonie a prouvé que l'exposition régulière à des récompenses permettait de contrecarrer ces symptômes de mal-être (van der Harst et al., 2005). Les auteurs ont ainsi suggéré que l'activation régulière du système de récompense, qui implique les systèmes méso-limbiques dopaminergiques, permettait de limiter les effets du stress. Un impact significatif de l'expression d'émotions positives sur la productivité des animaux de rente a été également mis en évidence (vaches laitières *Bos taurus* : Breuer et al., 2000; Rousing et al., 2004; porcs *Sus scrofa domesticus* : Fiedler et al., 2005; Lensink et al., 2009; poules pondeuses *Gallus gallus domesticus* : Edwards, 2009; pour une revue : Hemsworth et Coleman, 1998). A travers ces études, les auteurs ont principalement souligné l'impact d'une bonne relation entre les animaux et leurs éleveurs. En effet, d'un point de vue cognitif, l'induction d'émotions positives joue un rôle majeur sur l'animal et notamment sur sa perception des humains qui l'entourent, et ce, à court (Sankey et al., 2010b) voire à long terme (Sankey et al., 2010c). La mise en place de situations positives constituerait en effet un moyen de faciliter la

manipulation des animaux, que ce soit au travail (moutons *Ovis aries* : Hutson, 1985; chevaux domestiques *Equus caballus* : Lesimple et al., 2016a), lors de procédures vétérinaires (vaches laitières : Waiblinger et al., 2004), ou lors de situations stressantes pour les animaux (chiens *Canis lupus familiaris* : Anderson et Gantt, 1966; Hennessy et al., 1998). Ainsi, induire une perception positive de la situation constitue également un moyen de garantir la sécurité lors des interactions homme-animal. A l'inverse, l'utilisation majoritaire de renforcements négatifs peut rendre les animaux hyper-réactifs et par conséquent augmenter les risques d'accidents (chevaux : McGreevy et McLean, 2005). De nombreuses études ont notamment prouvé que l'utilisation de renforcements positifs (*e.g.* nourriture) permettait de promouvoir la motivation et par conséquent l'attention des animaux lors des sessions d'apprentissage. La valence émotionnelle positive d'un stimulus peut en effet jouer un rôle majeur sur l'attention sélective des individus (Phelps et al., 2006; Raymond, 2009) puisqu'elle augmentera sa motivation. Chez l'Homme, des études ont démontré que la promesse de gain pouvait améliorer les résultats lors de tâches cognitives (*e.g.* Libera et Chelazzi, 2006). Une étude réalisée chez le cheval a montré que l'utilisation de nourriture augmentait les performances des individus à répondre correctement à un ordre vocal (Rochais et al., 2014). A l'inverse, d'après Pavlov et sa théorie de la « tour silencieuse » (1904), le stress peut perturber l'apprentissage. En effet, grâce à la construction d'une aire de test complètement silencieuse où toutes les stimulations externes ont été supprimées, Pavlov a pu analyser les procédures d'apprentissage chez le chien en limitant toute perturbation extérieure. Une altération de la mémoire de travail spatiale a pu être observée par ailleurs chez des rats et souris soumis à un stress important (*e.g.* Diamond et al., 1999; Woodson et al., 2003). Chez le cheval, des individus stressés ont par exemple montré une mémoire de travail plus courte (Valençon et al., 2013).

Les différentes études évoquées ici démontrent ainsi les nombreux avantages à favoriser des situations d'expressions d'émotions positives chez l'Homme et l'animal. Par ailleurs, au-

delà d'incarner une source de motivation, les états émotionnels positifs seraient aussi un but que l'on cherche à atteindre, guidant ainsi nos pensées et actions (Nesse, 1990).

Les émotions positives au cœur du bien-être

Les émotions sont le reflet de la perception subjective d'une situation par l'individu. Cette perception semble être un élément clé dans l'évaluation du bien-être animal (Boissy et al., 2007a) puisqu'elle nous indique directement la façon dont l'individu évalue une situation, selon ses attentes et ses besoins. Depuis ces dernières années, une évolution importante en ce sens a été de considérer, dans l'évaluation du bien-être, des critères centrés sur l'animal plutôt que sur l'observation des conditions de vie. Celles-ci peuvent nous informer sur les risques d'altération du bien-être mais pas exactement sur l'état chronique de l'animal en lui-même (Blokhuis et al., 2003; Whay et al., 2003; Wood, 1998). En effet, depuis l'attribution d'« états mentaux » aux animaux (Dawkins, 1990), la notion de bien-être a évolué au profit de l'importance d'évaluer les états affectifs et émotionnels de l'animal.

Différentes approches ont jusqu'à présent été abordées pour définir le bien-être animal. En effet, bien que les auteurs s'accordent à dire que le bien-être est un état, chronique, de santé à la fois physique et mentale, des divergences apparaissent en revanche quant aux critères permettant d'atteindre cet état. La notion d'adaptabilité à l'environnement a d'abord été énoncée. Si Hughes (1976) évoque le fait d'être en harmonie avec l'environnement, Carpenter (1980) ou encore Broom (1991, 1986), eux, insistent sur la capacité d'un individu à faire face et s'adapter à l'environnement qui lui est proposé par l'Homme lui permettant d'atteindre un équilibre physiologique interne. Une autre théorie propose quant à elle qu'un animal est en état de bien-être s'il satisfait ses besoins comportementaux et physiologiques (Dawkins, 1990; Duncan, 1998). Cependant, derrière ces différentes définitions est sous-tendue la notion d'absence de souffrance ou de stress, écartant alors toute idée d'expérience positive vécue par l'animal. Plus récemment et suite aux études menées en psychologie, l'évocation d'états

émotionnels subjectifs apparaît dans les définitions proposées par la littérature et, avec elle, la mention d'émotions positives, partant du constat que l'évaluation d'une absence de stress et de souffrance ne suffit pas. Et bien que jusqu'alors la présence d'états affectifs positifs n'ait été que faiblement sous entendue, certains auteurs suggèrent que l'état de bien-être serait atteint non seulement lorsque l'animal ne ressent pas d'émotions négatives durables, mais surtout lorsqu'il peut éprouver des émotions positives, et ce de manière régulière (Boissy et al., 2007b; Dawkins, 1983; Fraser, 1995). Il reste néanmoins à définir de quelles émotions positives on parle puisqu'il paraît difficile de vivre en permanence dans des états émotionnels intenses, qu'ils soient positifs ou négatifs (Boissy et al., 2007b). Le bien-être pourrait correspondre à des émotions positives de faible intensité, correspondant à un maintien d'une homéostasie (Korte et al., 2007). Ainsi, l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) a proposé cette année la définition suivante : « le bien-être d'un animal est l'état mental et physique positif lié à la satisfaction de ses besoins physiologiques et comportementaux, ainsi que de ses attentes. Cet état varie en fonction de la perception de la situation par l'animal » (ANSES, 2018).

Des émotions négatives répétées, mais aussi surtout la souffrance et/ou le stress répétées peuvent également induire des états affectifs prolongés (Ursin et Eriksen, 2004), appelés humeurs (Mendl et al., 2010). Ces humeurs peuvent se caractériser comme l'état affectif vers lequel un individu reviendra en dehors d'une stimulation émotionnelle quelconque, puisqu'en effet il n'est pas exclu qu'un individu en état de stress chronique puisse aussi expérimenter temporairement un état affectif positif sous certaines conditions (*e.g.* lors de la consommation d'un aliment particulièrement appétissant). Ainsi, à partir des systèmes d'acquisition d'une récompense d'une part, et d'évitement d'une punition d'autre part, le « core affect » proposé par Mendl et al. (2010) et adapté de Russell (1980), se présente comme un espace bidimensionnel dans lequel les humeurs des individus évoluent. Cet état durable serait en

constante évolution, et résulterait de l'accumulation des expériences (positives ou négatives) passées de l'individu et de ses réussites à acquérir une récompense ou de ses échecs à éviter une punition. Ainsi, si un individu réussit à éviter fréquemment des événements menaçants ou s'il est généralement exposé à un environnement sûr, alors pourra émerger chez lui une humeur positive de faible intensité (*i.e.* état relâché, calme ; quadrant Q2, Fig.3). A l'inverse, un environnement faible en ressources associé à des échecs récurrents face à l'acquisition de ressources convoitées pourrait résulter en une humeur majoritairement négative de faible intensité (*i.e.* état déprimé, triste ; quadrant Q3, Fig.3). Ainsi, ces états affectifs ou humeurs pourront influencer l'appréciation d'une situation par l'animal et les réponses émotionnelles (neurophysiologiques, comportementales) qui en découlent. Les chercheurs ont caractérisé ce phénomène de « biais cognitif », qui peut se décliner de trois façons selon la fonction cognitive impactée par l'état affectif. On trouvera alors des biais de mémoire, d'attention ou encore de jugement (Paul et al., 2005). Dans le dernier cas, des études ont pu déjà démontrer chez différentes espèces l'influence de l'état chronique d'un individu sur sa perception d'une situation (Harding et al., 2004). En effet, des individus en bien-être évalueront plus positivement une situation ambiguë (porcs : Douglas et al., 2012; moutons : Doyle et al., 2010; chevaux : Henry et al., 2017; rats *Rattus norvegicus* : Rygula et al., 2012). Les auteurs suggèrent ainsi qu'un individu en état de bien-être, et qui par conséquent expérimente régulièrement des situations positives en accord avec ses besoins et ses attentes, aura plus de chances d'afficher une humeur positive et donc d'exprimer des émotions positives face à un événement.

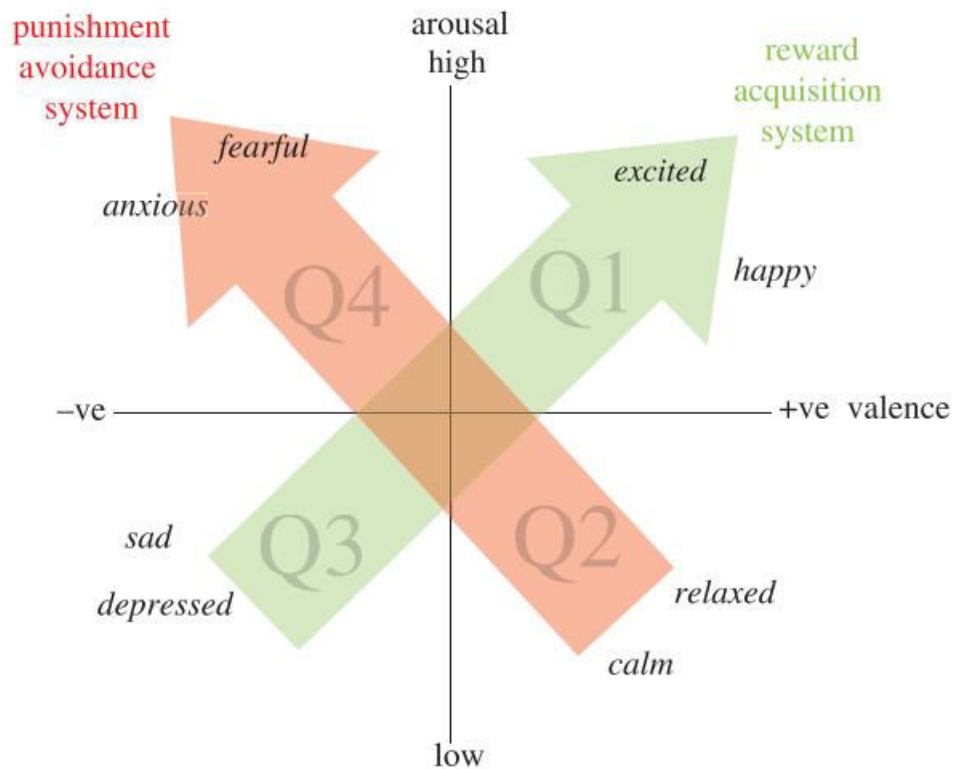


Figure 3 : « Core affect ». Espace en deux dimensions défini par la valence (positive/négative) et l'intensité (forte/faible) des émotions. Les mots en italiques indiquent la position possible des états affectifs. Les flèches indiquent les systèmes biologiques associés à l'acquisition des récompenses (en vert) et l'évitement des punitions (en rouge) ; proposé par Mendl et al. (2010), adapté de Russell (1980).

2) Mesure des émotions positives

2.1 Un défi majeur

Malgré les différentes théories et concepts proposés dans la littérature, de nombreuses difficultés existent encore face à la mesure des émotions positives et, par-dessus tout, il est indéniable que trop peu d'éléments sont à ce jour disponibles pour être capable de clairement identifier un état affectif positif chez l'animal (Boissy et al., 2007b; de Vere et Kuczaj, 2016; Fredrickson, 1998; Seligman et Csikszentmihalyi, 2000). D'après de Rivera et al. (1989) les émotions positives seraient moins nombreuses et plus diffuses que les émotions négatives. Selon d'autres auteurs, elles seraient également moins discernables les unes des autres, comparées aux émotions à valence négative (Ellsworth et Smith, 1988). Selon la théorie adaptative, la sélection naturelle aurait façonné les émotions de telle sorte qu'elles se produisent lors de situations constituant une menace ou au contraire une opportunité d'augmenter la fitness de l'individu. Le déséquilibre existant entre les opportunités de se trouver face à chacune de ces deux situations en faveur des situations menaçantes, expliquerait selon Nesse (1990) pourquoi beaucoup moins de recherches ont été menées sur les émotions positives. Les émotions négatives étant alors plus urgentes pour la survie, elles auraient primé sur les émotions positives (Seligman et Csikszentmihalyi, 2000). D'après Fraser et Duncan (1998), les processus évolutifs auraient favorisé l'expression d'émotions positives lors de « situations d'opportunités » ce qui expliquerait pourquoi ces émotions sont plus variables et difficiles à aborder.

Un changement émotionnel s'accompagne de changements neuronaux (*e.g.* activité cérébrale), comportementaux (*e.g.* expressions faciales), physiologiques (*e.g.* rythme cardiaque) et cognitifs (*e.g.* attention), qui sont tous objectivement mesurables (Mendl et al., 2010). Si l'évaluation de l'expérience subjective de l'animal n'est pas directement accessible, en revanche les composantes physiologiques, comportementales et cognitives, elles, le sont car

elles sont mesurables (Désiré et al., 2002; Paul et al., 2005). Cependant, certaines difficultés apparaissent dans l'évaluation des états émotionnels. Premièrement, une émotion est une expérience affective aigüe de courte durée dont il est difficile d'estimer la longévité. Par conséquent, il est évident que la temporalité constitue un facteur important lors de la mesure de l'état émotionnel d'un individu à un moment T. Ainsi il n'est pas exclu que cet état affectif évolue avec le temps. Ce flou temporel peut alors poser question par exemple quant à la fiabilité de certaines mesures physiologiques (*e.g.* Schrader et Ladewig, 1999). Par ailleurs, bien souvent la mesure des comportements ou réponses physiologiques émises en réponse à un stimulus permettent une bonne évaluation quantitative de l'intensité ressentie par l'individu (*i.e.* excité *vs.* calme). En revanche, il est plus délicat de discerner exactement la valence (*i.e.* positive ou négative) des changements biologiques exprimés par les animaux. De plus, il est particulièrement difficile de distinguer l'intensité de la valence lors de la mesure d'un état interne. En effet, créer une situation provoquant une réponse émotionnelle d'intensité similaire mais de valence opposée est assez simple. En revanche, exposer des individus à des stimuli générant des réponses de même valence mais d'intensité opposée est plus délicat (Briefer, 2012). Cette limite fait partie entre autres des raisons pour lesquelles, depuis très longtemps, la majorité des études se sont concentrées sur les émotions négatives.

Nous détaillerons dans cette troisième sous-partie les différents indicateurs d'émotions positives déjà évoqués dans la littérature et soulèverons les quelques ambiguïtés qui y sont reliées, afin d'essayer d'en démêler le vrai du faux.

2.2 Des propositions d'indicateurs : perspectives et ambiguïtés

-Indicateurs physiologiques

L'activation du **système nerveux autonome** (orthosympathique et parasymphathique) a été beaucoup étudiée, via principalement l'évolution du rythme cardiaque (RC) lors d'un traitement émotionnel. En effet, suite aux nombreuses études évaluant les réponses physiologiques au stress (*e.g.* vaches laitières : Hopster et al., 2002; chevaux : Stewart et al., 2003), nous pouvons aujourd'hui affirmer que l'activation de ce système est déterminée en grande partie par les émotions. Ainsi, partant de ce postulat, l'évolution du RC a été mesurée en réponse à des stimuli positifs. La plupart des états émotionnels positifs étudiés étant caractérisés par une forte intensité, très souvent les études ont conclu qu'une émotion positive se distinguait par une augmentation du RC. Effectivement, l'observation d'une régulation du système nerveux autonome serait particulièrement révélatrice du niveau d'intensité de l'éveil émotionnel (Cacioppo et al., 2000). Cette observation a été par exemple réalisée lors de l'anticipation d'évènements positifs (*e.g.* nourriture : Leliveld et al., 2016, brossage : Tamioso et al., 2018). Cependant, le même constat a été fait lors de l'anticipation d'évènement négatifs (moutons : Baldock et Sibly, 1990; vaches laitières : Waiblinger et al., 2004), associés à une augmentation du stress. Ainsi la mesure du rythme cardiaque n'apparaît pas complètement fiable et difficilement associable à une valence spécifique (Imfeld-Mueller et al., 2011). Il semblerait en revanche que la variabilité du rythme cardiaque (VRC) soit plus fiable dans l'évaluation des émotions (von Borell et al., 2007), et plusieurs études chez l'Homme ont corrélé une augmentation de cette variabilité avec un état émotionnel positif (*e.g.* Lee et al., 2005). Une augmentation de la VRC indiquant l'activation du système parasymphathique a été mise en évidence chez des brebis pendant et après un brossage, associée à une relaxation de l'animal (Tamioso et al., 2018), ou encore chez des agneaux se faisant caresser (Coulon et al., 2015). De même Langbein et al. (2004) ont constaté chez des chèvres une augmentation significative de

la VRC lorsqu'elles avaient réellement appris à réaliser une tâche de discrimination visuelle. La thermographie infrarouge permet de mesurer de manière indirecte les variations de flux sanguin grâce à la détection de changements de température de la peau, et constitue ainsi une jauge de l'état d'activation du système nerveux autonome. De la même manière que pour le rythme cardiaque, des résultats contradictoires ont été révélés selon les stimuli positifs utilisés (poules pondeuses : Moe et al., 2012; vaches : Proctor et Carder, 2015; chiens : Travain et al., 2016), suggérant une fois encore que cet indicateur physiologique relève plus de l'intensité de que de la valence de l'état affectif.

L'activation du **système neuroendocrinien** a été largement étudiée en réponse au stress, associé à une augmentation de la concentration en cortisol (Selye, 1936). Néanmoins, certaines contradictions apparaissent quant aux réponses observées dans le cas des émotions positives. Une diminution de la concentration en cortisol salivaire a été mesurée chez l'Homme face à des vidéos plaisantes (Watanuki et Kim, 2005) ou encore lors d'interactions positives avec l'Homme chez le chien (Bergamasco et al., 2010), alors qu'une augmentation de la concentration en cortisol urinaire a été mesurée chez le porc avant l'accès à une récompense (Reimert et al., 2013) ou dans un environnement enrichi (de Jong et al., 1998). Par ailleurs, il semblerait que des fluctuations de ce système neuroendocrinien soit davantage informative de l'état chronique que d'un éveil émotionnel aigu (Boissy et al., 2007b; Mormède et al., 2007; Pawluski et al., 2017).

Enfin, d'après plusieurs auteurs, les **corrélats neurophysiologiques** des émotions seraient plus fiables que les mesures réalisées au niveau des systèmes périphériques (Izard, 2007; Panksepp, 2007). Ainsi, chez l'Homme, des études utilisant l'électroencéphalographie (EEG) ont permises d'identifier des zones d'activation cérébrale en réponse à des stimuli positifs ainsi que des gammes d'ondes prédominantes. Une activation du lobe frontal gauche a été par exemple observée à la vue de vidéos (Watanuki et Kim, 2005) ou lors de l'écoute de musiques (Schmidt

et Trainor, 2001) plaisantes. Une étude a récemment essayé, grâce à la technique de spectroscopie infrarouge fonctionnelle, de mesurer l'activité cérébrale chez des animaux éveillés face à des stimuli positifs et négatifs, mais aucune différence n'a pu être établie (moutons : Raoult et Gyax, 2018).

-Indicateurs comportementaux et posturaux

Les **expressions faciales** sont depuis longtemps reconnues comme étant le reflet des émotions, particulièrement chez l'Homme (Darwin, 1872; Ekman, 1984). Si des grimaces de douleurs ont été décrites (lapins : Keating et al., 2012; rats : Sotocina et al., 2011), plus rares sont les études décrivant les expressions faciales associées aux émotions positives, bien qu'une « playface » ait été caractérisée chez plusieurs espèces notamment chez les primates non-humains (Palagi et Mancini, 2011) et les chiens (Bekoff, 1974). Chez les bébés, un claquement des lèvres (*lip smacking*), associé à un relâchement des muscles du milieu du visage et parfois un sourire accompagné d'un plissement du coin des yeux, est associé à la perception d'un goût sucré plaisant (Berridge, 2003). Un claquement des lèvres similaire est également observé lors de toilettages mutuels chez les primates non-humains (Steiner et al., 2001; Van Hooff, 1967). Cependant, l'étude des mimiques faciales est fastidieuse puisqu'elle nécessite de recueillir un nombre important de photographies, difficiles à standardiser sur le terrain, et par la suite une analyse très détaillée image par image. De plus, il est parfois difficile de démêler ces expressions des vocalisations et autres comportements émis simultanément (pour une revue : Waller et Micheletta, 2013). Par ailleurs, deux expressions faciales peuvent se distinguer par des nuances très fines, difficilement visibles au premier regard (Van Hooff, 1967).

Les **postures** constitueraient en revanche des éléments cruciaux de l'expression des émotions (Darwin, 1872). Darwin décrit alors par exemple un dos arqué et une queue tout à fait raide chez un chat « montrant son affection pour son maître » (Darwin, 1872). Cependant une étude réalisée chez le mouton a conclu que la posture de la queue ne permettait pas de différencier

des contextes à valence positive ou négative chez cette espèce (Reefmann et al., 2009). La position des oreilles apparaît en revanche être particulièrement informative de l'état émotionnel de l'animal chez plusieurs espèces. Chez la vache, une fréquence plus importante d'oreilles pendantes a été particulièrement observée lors de grattage par un expérimentateur à des endroits appréciés par l'animal (de Oliveira et Keeling, 2018; Proctor et Carder, 2014; Schmied et al., 2008), de même chez le mouton lorsqu'un repas, enrichi ou non, était délivré aux individus (Reefmann et al., 2009). De la même façon, lors d'une étude analysant la perception des contacts tactiles donnés par des soigneurs à des agneaux, une corrélation positive a été établie entre le temps passé proche du soigneur et la fréquence d'oreilles observée en position pendante (Coulon et al., 2015). Enfin, une étude caractérisant les expressions faciales chez le rat a mis en évidence un élargissement de l'angle entre l'oreille et l'axe de la tête lors d'épisodes de « chatouillements », associant cette position à une relaxation des individus (Finlayson et al., 2016) (Fig.4). Si une orientation des oreilles vers l'avant est synonyme d'attention, voire de vigilance dans certain cas, envers un stimulus, et a été associée à des états émotionnels de forte intensité tels que ceux exprimés lors de l'anticipation d'un événement positif (*chèvres Capra hircus* : Briefer et al., 2015b; brebis : Tamioso et al., 2018), il semble qu'elle soit également associée à une perception globalement positive de l'environnement (chevaux : Rochais et al., 2016a; Sankey et al., 2010c). Par ailleurs, au-delà de la posture en elle-même, la fréquence des changements de posture d'oreille, mais aussi de queue semble être particulièrement associée à une émotion positive. En effet, une augmentation significative des mouvements de queue a été constatée lors des phases de brossage (vaches : de Oliveira et Keeling, 2018; brebis : Tamioso et al., 2018), mais également de jeu chez le porc (Marcet Rius et al., 2018), lors de l'acquisition d'une récompense suite à la réalisation d'une tâche cognitive (McGowan et al., 2014) ou encore d'alimentation chez le chien (Travain et al., 2016).

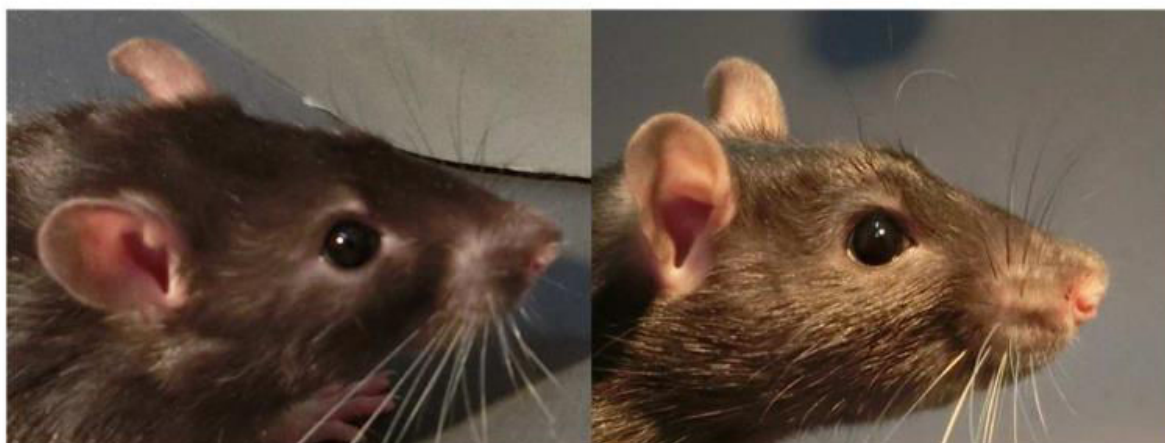


Figure 4 : *Position des oreilles observée chez le rat au cours d'un traitement positif (i.e. « chatouillement » par un expérimentateur (à gauche) ou négatif (i.e. exposition à un nouvel environnement incluant une diffusion intermittente de bruits intenses) (à droite), d'après Finlayson et al. (2016).*

L'expression en elle-même de certains comportements est décrite comme gratifiante pour l'individu sur long terme, car hautement motivée, et n'apparaîtrait que lorsque les autres besoins sont satisfaits. Alors, l'état émotionnel des individus réalisant ces comportements sera évalué comme positif (Boissy et al., 2007b). Ainsi, la présence de **jeu** est généralement considérée comme associée à un état affectif positif, au moins chez le jeune, (Vanderschuren et al., 1997). Le jeu constituerait un entraînement pour former les individus à faire face aux événements inattendus. Considérant que les animaux recherchent activement des opportunités de jeu, il est communément supposé que ce comportement soit associé à un état de « plaisir » (Spinka et al., 2001). Des comportements de jeu ont par exemple été observés après une augmentation de l'espace disponible dans les enclos chez des porcelets (Chaloupková et al., 2004) ou encore après l'apport d'un bac à eau permettant le bain chez des visons juvéniles (Vinke et al., 2005). Les comportements, postures et vocalisations émis dans ce contexte ont été ainsi analysés

comme le reflet d'émotions positives (agneaux : Anderson et al., 2015; porcs : Marcet Rius et al., 2018; rats : Panksepp et Burgdorf, 2003) et semblent se caractériser par des états de forte intensité. Ceci pourrait être différent chez l'adulte, par exemple, une présence anormalement importante d'épisodes de jeux a été observée en captivité chez des macaques rhésus contrairement à une situation se rapprochant des conditions naturelles (Blois-Heulin et al., 2015). De même, une augmentation des épisodes de jeu a pu être mise en évidence dans des situations restrictives et stressantes (chats *Felis silvestris catus* : Bateson et al., 1990; porcs : Wood-Gush et al., 1990). Par ailleurs, une corrélation positive a été démontrée entre la fréquence de jeu et des indicateurs de mal-être des individus. Il se pourrait en effet que le jeu permette d'évacuer un stress lié à des conditions de vie sous-optimales (primates non-humains : Blois-Heulin et al., 2015; chevaux : Hausberger et al., 2012). Ainsi, si ce comportement serait associé à une émotion positive immédiate, il pourrait en revanche refléter un état chronique altéré. Il devient alors difficile de définir si et de quelle manière le jeu reflète des états affectifs purement positifs (Ahloy-Dallaire et al., 2017). Aussi, suivant le même raisonnement que le jeu, la présence **de comportements affiliatifs** (Spruijt et al., 1992) a été proposée comme indicateur d'états affectifs positifs. En effet, certaines évidences montrent que le toilettage mutuel serait accompagné d'une diminution du rythme cardiaque chez l'individu receveur, signifiant une décontraction de l'individu, et permettrait de maintenir les liens sociaux au sein du groupe (Aureli et al., 1999; Dunbar, 1991; Sato et al., 1993). En revanche, l'interprétation de l'occurrence de ce comportement ne semble pas si simple puisque certaines études ont mis en lien une augmentation des comportements de toilettage mutuel avec le niveau d'anxiété des individus (*e.g.* macaques *Macaca sylvanus* : Semple et al., 2013). D'autres auteurs ont souligné une fréquence importante de ces comportements affiliatifs dans des environnements appauvris en comparaison à des environnements enrichis (porcs : de Jong et al., 1998; Horrell et Ness, 1995). Ainsi, la présence de ces comportements en lien avec des états affectifs doit être évaluée

avec précaution et s'il semble qu'ils soient source d'émotions positives à court terme, il semblerait également qu'ils s'expriment davantage chez des individus dont l'état de bien-être apparaît plutôt préoccupant.

La **latéralité** est définie comme la préférence systématique d'un côté du corps sur l'autre dans la réalisation de tâches motrices ou perceptuelles impliquant des organes perceptifs ou des membres appariés (Rogers et Andrew, 2002). A la suite des différentes théories relatant l'implication d'une latéralité hémisphérique dans le traitement des émotions (Campbell, 1982; Davidson, 1995), plusieurs auteurs ont essayé de mettre en avant des biais de latéralité dans les réponses comportementales des animaux à des stimuli positifs. Chez le chien, une prévalence de l'hémisphère gauche a été par exemple observée lors du traitement de vocalisations humaines positives (Siniscalchi et al., 2018). Par ailleurs une orientation majoritaire de la tête vers la droite (traitement par hémisphère gauche) a pu être démontrée en réaction à la diffusion de vocalisations de congénères chez différentes espèces (lions de mer *Zalophus californianus* : Böye et al., 2005; primates non-humains : Petersen et al., 1978; Poremba et al., 2004; chats : Siniscalchi et al., 2016).

Les **vocalisations** ont été largement étudiées en lien avec les émotions chez l'animal, considérées comme un marqueur fiable de l'expression de l'état interne de l'individu (Briefer, 2012; Manteuffel et al., 2004a), notamment à cause de l'implication majeure du système limbique dans leur production (Papoušek et al., 1992; Seyfarth et Cheney, 2003). Des auteurs ont proposé que certains paramètres acoustiques puissent refléter la valence d'une situation : une situation positive serait associée à une diminution de la durée et de la fréquence fondamentale (*e.g.* Briefer et al., 2015a; Taylor et al., 2009). Cependant, pour la plupart de ces travaux, les situations positives étaient assumées par les auteurs sans réellement tester le point de vue de l'animal. De plus, la mise en avant de vocalisations de hautes fréquences chez le rat, assimilable selon les auteurs au rire humain, est contradictoire avec ces résultats (Knutson et

al., 1998). Par ailleurs ces études ont davantage mis en évidence une variation de l'intensité que de la valence émotionnelle, et peu de recherches ont réussi à clairement distinguer l'encodage des deux dimensions caractérisant les émotions (pour une revue : Briefer, 2012; Manteuffel et al., 2004b). Au-delà des vocalisations, il semblerait que l'étude des sons non-vocaux constitue également un champ de recherche intéressant en lien avec les émotions positives puisque plusieurs exemples de ces productions sonores ont été relevés, notamment dans des contextes positifs de faible intensité (*e.g.* Fichtel et al., 2001; Montenegro, 1998; Policht et al., 2008; Scheumann et al., 2007) (voir **chapitre 5**).

Un des moyens les plus couramment utilisés pour évaluer les émotions positives chez l'animal consiste à créer artificiellement une situation spécifique supposée provoquer l'état émotionnel recherché chez l'individu étudié. Les comportements ainsi observés dans cette situation seront considérés comme l'expression d'un état affectif positif. Les **comportements d'anticipation** d'un événement positif ont été largement proposés dans ce sens. Les auteurs justifient en effet que le désir lié à l'arrivée pressentie d'une récompense et les comportements qui y sont associés correspondent à une phase appétitive médiée par la production de dopamine, impliquée dans le circuit (central) de la récompense (Boissy et al., 2007b; Spruijt et al., 2001). Par ailleurs, considérant qu'un état de mal-être est associé à de l'anhédonie (*i.e.* perte de motivation pour une ressource normalement fortement appétente), les auteurs considèrent alors que l'expression d'une forte motivation à obtenir une ressource positive traduit un état de bien-être chez l'individu (Spruijt et al., 2001). Le contexte d'anticipation est ainsi régulièrement utilisé par les scientifiques comme référence d'une situation source d'émotions positives (*e.g.* Baciadonna et al., 2018; Briefer et al., 2015b; Leliveld et al., 2016; Maigrot et al., 2017). D'un point de vue émotionnel, les réponses enregistrées dans ce contexte sont indéniablement caractérisées par une forte intensité qui se traduit par une augmentation du rythme cardiaque et de la locomotion, de nombreuses transitions comportementales et posturales ainsi qu'une attention accrue envers

la source de récompense. En revanche, la valence associée à ces comportements est plus ambiguë. L'observation de comportements stéréotypiques, pourtant largement démontrés comme un signe d'expression d'un état chronique altéré (Cooper et McGreevy, 2007; Lesimple et al., 2016b), est récurrente dans cette situation (dromadaires *Camelus dromedarius* : Aubé et al., 2017; visons *Mustela vison* : Hansen et Jeppesen, 2006; Vinke et al., 2004; renards argentés *Vulpes vulpes* : Moe et al., 2006; pour une revue : Rose et al., 2017). Par ailleurs, une étude a montré que chez les dauphins, les individus pessimistes exprimaient davantage de comportements d'anticipation avant les sessions d'entraînement (Clegg et Delfour, 2018). Récemment, une étude a exploré le traitement hémisphérique de vocalisations émises chez la chèvre dans des contextes positifs (*i.e.* anticipation de nourriture) et négatifs (*i.e.* isolation, frustration alimentaire, playback d'abolement de chiens). Les chercheurs n'ont pas pu mettre en évidence de différence concernant l'orientation de la tête en réponse aux stimuli de différente valence, et une dominance de l'hémisphère droit dans tous les cas (Baciadonna et al., 2018). Cette étude laisse ainsi penser qu'il se produit un traitement émotionnel identique pour les vocalisations émises en situation d'anticipation et en situation négative. Ces différents constats posent question quant à l'interprétation réelle des comportements observés durant cette période comme indicateurs d'émotions positives. Il semblerait ici que la temporalité d'accès à la ressource convoitée soit un facteur important à prendre en compte. On pourrait en effet penser qu'un délai d'attente trop long par rapport aux attentes de l'individu soit assimilé à une perte de contrôle entraînant de la frustration (*e.g.* Johannesson et Ladewig, 2000) (voir **chapitre 3**).

-Indicateurs cognitifs

Un état affectif n'inclut pas seulement des émotions aiguës, mais aussi des humeurs plus durables dans le temps qui résultent de l'intégration des expériences émotionnelles à court terme (Mendl et al., 2010). Aussi, plusieurs études chez l'Homme ont prouvé que l'état affectif pouvait influencer un certain nombre de processus cognitifs et ainsi induire des **biais de**

mémoire, d'attention ou encore de jugement (Paul et al., 2005). L'hypothèse voudrait qu'un individu étant dans un état affectif positif plus durable évalue plus positivement les stimuli de son environnement. Il semblerait que les réponses cognitives mesurées au cours de tests d'attention, de mémoire ou de jugement soient de bons indicateurs de sélection d'animaux étant plus ou moins disposés à ressentir des émotions positives. Par exemple, certaines études ont permis de constater un biais optimiste pour des individus élevés en milieu enrichi (*e.g.* rats : Brydges et al., 2011; porcs : Douglas et al., 2012). Au contraire, d'autres études ont montré une évaluation plus positive des stimuli chez des individus tout juste libérés d'une situation contraignante, soulignant l'effet du contraste et le besoin de rétablir l'homéostasie (*e.g.* moutons : Doyle et al., 2010). Un biais d'attention vers des stimuli à consonance négative a déjà été prouvé chez des patients déprimés (Paul et al., 2005), en revanche très peu d'études ont analysé l'impact d'un état affectif positif sur l'attention, notamment chez l'animal.

Nous avons pu voir à travers les différents exemples cités que si plusieurs des indicateurs proposés par la littérature sont prometteurs, d'autres restent encore à valider voire apparaissent clairement ambigus. Par ailleurs, ces exemples montrent à quel point il est difficile de distinguer la valence de l'intensité des émotions tout comme il apparaît délicat de discerner si les mesures réalisées témoignent d'un état émotionnel aigu ou plutôt d'un état affectif plus durable. Dans tous les cas, la mise en lien de plusieurs types d'indicateurs combinés semble être une solution afin de tenter de mettre en évidence des indicateurs plus fiables (Hall et al., 2018).

3) Problématique et objectif de la recherche

3.1 Problématique

Nous avons pu voir au fil de cette introduction les différents avantages à promouvoir l'expression d'émotions positives à la fois chez l'Homme et l'animal, notamment dans l'optique d'améliorer les conditions de vie et le bien-être. Les émotions constituent effectivement la base de la perception par un individu, de l'environnement qui l'entoure. Malgré tout, de nombreuses difficultés semblent entraver l'évaluation de ces émotions. La recherche s'est jusqu'à présent concentrée sur l'identification d'émotions négatives si bien qu'aujourd'hui trop peu d'indicateurs d'émotions positives ont pu être mis en évidence. Ainsi, il est encore difficile de pouvoir clairement indiquer dans quelles circonstances les animaux expriment des émotions positives et de quelles façons ces émotions se caractérisent.

Par ailleurs, d'un point de vue purement appliqué, ce manque d'indicateurs représente aujourd'hui un frein dans la mise en place de pratiques aspirant à améliorer les conditions de vie des animaux domestiques. En effet, les flous persistants dans la littérature représentent un risque de mauvaise interprétation des réponses exprimées par les individus dans certaines situations. Pour le moment, seuls des tests de choix apparaissent réellement pertinents dans l'identification de situations favorables aux animaux (*e.g.* Lee et al., 2011; Mejdell et al., 2016; Søndergaard et al., 2011; van Rooijen, 1982).

Au cours de ce travail, nous avons tenté de clarifier la validité de certains indicateurs et identifier des marqueurs fiables d'émotions positives, tout en mettant en avant des outils de mesures pertinents. Ces recherches ont été réalisées dans l'optique de pouvoir proposer aux utilisateurs des techniques d'évaluation simple et facilement réalisables sur le terrain.

3.2 Choix du modèle biologique

Le cheval fait partie des espèces domestiques devant faire face à des conditions de vie indéniablement déterminées par les choix et actions des humains qui les entourent, impliquant des restrictions à plusieurs niveaux (*e.g.* alimentaires, spatiales, sociales), et bien souvent en inadéquation avec ses propres besoins. De nombreux travaux ont déjà démontré les conséquences potentiellement délétères de cette situation sur son état de bien-être (*e.g.* Lesimple et al., 2016b). Or une altération de l'état chronique est dommageable à différents niveaux et peut conduire à une baisse de la fertilité (Benhajali et al., 2014), mais aussi des capacités cognitives (Hausberger et al., 2007; Parker et al., 2008), particulièrement attentionnelles (Rochais et al., 2016a, 2016b), et donc des performances. Par ailleurs, un état de mal-être augmente les risques d'accidents au travail (Fureix et al., 2010b; Lesimple et al., 2011; von Borstel et al., 2009). Il est donc temps d'optimiser l'utilisation du cheval en favorisant des situations perçues positivement par l'individu et qui permettront d'améliorer à la fois son état chronique mais également les relations qu'il entretient avec l'homme.

A l'image de la littérature concernant les autres espèces, trop peu d'études ont tenté de mettre en évidence des indicateurs d'émotions positives chez le cheval et de même, parmi les propositions déjà évoquées, beaucoup d'ambiguïtés existent.

-Indicateurs physiologiques

Une baisse du rythme cardiaque a par exemple été observée à la suite d'une imitation par l'homme de toilettage mutuel (*i.e.* grattage au niveau du garrot) (Normando et al., 2003; Stewart et al., 2011) ou en phase postprandiale (Ninomiya et al., 2007), interprétée alors par les auteurs comme un état de relaxation. Cependant, à l'inverse une augmentation du rythme cardiaque a été relevée dans une situation d'anticipation alimentaire, situation pourtant présentée par les

auteurs comme source d'émotions positives (Peters et al., 2012). Par ailleurs, l'utilisation de la thermographie à infrarouge a conduit à des résultats contradictoires concernant l'activation du système nerveux autonome : une augmentation de la température de l'œil a été notée après une imitation de toilettage mutuelle (Stewart et al., 2011) mais également à la suite d'un entraînement stressant (Hall et al., 2011). Une étude a par ailleurs récemment montré qu'un taux anormalement bas de cortisol était un signe de mal-être (Pawluski et al., 2017). Enfin une diminution du taux d'ocytocine a été observé chez des individus à la suite de plusieurs sessions de grattages qualifié de « doux » en comparaison à un groupe de chevaux recevant des grattages plus sévères (Lansade et al., 2018).

-Indicateurs comportementaux et posturaux

La caractérisation des **expressions faciales** est un sujet de recherche en vogue également chez le cheval (*e.g.* Wathan et al. 2015). Cependant à l'heure actuelle, uniquement des traits exprimant des émotions négatives telle que la douleur ont été mis en avant (Dalla Costa et al., 2014; Glerup et Lindegaard, 2016; Mullard et al., 2017; van Loon et Van Dierendonck, 2015). Cependant une étude très récente a caractérisé les expressions faciales de chevaux lors de grattages visiblement appréciés. Les auteurs ont alors relevé une élévation modérée de l'encolure, des yeux mi-clos, un allongement de la lèvre supérieure et des oreilles pointées en arrière presque en ligne avec le nez (Lansade et al., 2018). Cependant ces expressions n'ont été mesurées que lors d'une seule session et mériteraient d'être répétées afin de pouvoir tirer de réelles conclusions.

La **position des oreilles** constitue un élément indispensable de la communication visuelle chez le cheval (Waring, 2003; Weeks, 1996), reflétant par conséquent l'état affectif de l'animal. Si les oreilles pointées vers l'avant peuvent être observées lorsqu'un cheval est attentif à une stimulation distante (Rochais et al., 2017a), voire en état d'alerte (Waring, 2003), elles sont aussi l'expression la plus couramment observée (avec la position sur le côté) chez des animaux

en alimentation (Waring, 2003), en observation calme de l'environnement (Rochais et al., 2016a) ou en interactions positives avec des congénères (McDonnell et Poulin, 2002; Waring, 2003). Par ailleurs, de nombreuses études ont révélé qu'une position avant des oreilles était particulièrement associée à une perception positive de l'homme, caractérisée par des comportements d'approche et d'investigation, suite à l'utilisation de renforcements positifs par exemple (*e.g.* Hausberger et al. 2008; Sankey et al. 2010c; Ali et al. 2016).

De nombreuses croyances sont véhiculées à la fois dans le milieu équin mais aussi dans la presse concernant les caractéristiques comportementales d'un cheval « joyeux ». La présence de **jeu** fait partie de ces idées auxquelles les utilisateurs s'attachent à associer à un état émotionnel positif. Cependant cette hypothèse est contestée par certains auteurs. En effet, des études ont révélé que les chevaux adultes qui jouaient souffraient de stress chronique et exprimaient des comportements stéréotypiques (Blois-Heulin et al., 2015; Hausberger et al., 2012).

En ce qui concerne les comportements affiliatifs tels que le **toilettage mutuel**, il semblerait qu'il augmente au sein d'un groupe en cas d'instabilité sociale (Sigurjonsdottir et al., in prep). Par ailleurs, il est intéressant de noter qu'il ne représente que 5% du budget temps du cheval en conditions naturelles (Boyd et al., 1988; Waring, 2003). Christensen et al. (2002) ont en effet constaté une augmentation de ces comportements mais aussi du jeu chez des étalons, précédemment privés de contacts sociaux, au moment de la remise en contact avec des congénères. Selon les auteurs, ces observations inhabituelles seraient attribuables à un « effet rebond » des suites des privations sociales.

Peu d'évidences de **latéralité** comportementale en réponse à des émotions positives ont été démontrées chez le cheval, si ce n'est que Basile et al (2009) ont observé une prévalence de l'orientation de l'oreille droite (hémisphère gauche) vers des hennissements familiaux.

Chez le cheval, des différences spectrales ont été par exemple constatées dans certaines **vocalisations** dans des contextes considérés comme positifs (*i.e.* anticipation de nourriture) ou négatifs (*i.e.* séparation entre une jument et son poulain) (Pond et al., 2010). Inversement, la production vocale pourrait induire un certain apaisement : la production d'hennissement chez des étalons a été corrélée à une diminution du rythme cardiaque, permettant alors aux individus de retrouver l'homéostasie (Lemasson et al., 2015). Certains paramètres acoustiques pourraient aussi être associés à un état émotionnel positif, tels qu'une diminution de la durée ou encore de la fréquence fondamentale moyenne des hennissements (Briefer et al., 2015a). Dans une étude détaillée des vocalisations des ongulés, Kiley (1972) a proposé un gradient acoustique, incluant à la fois des signaux vocaux et non-vocaux, selon l'intensité de l'état interne des individus. Ce gradient allait des soupirs aux longs hennissements en passant par les nickers, associés à des situations positives.

Aujourd'hui une seule étude a tenté de caractériser les **comportements d'anticipation** chez le cheval. Dans cette étude, les chevaux semblaient montrer une augmentation globale de l'agitation (*i.e.* nombre important de transitions comportementales) et également des comportements stéréotypiques pour certains individus (Peters et al., 2012). En effet, la phase de nourrissage des chevaux en écurie est le meilleur moment pour observer des comportements stéréotypiques (Fureix et al., 2011a; McGreevy et al., 1995, Mills 2005). Par ailleurs une étude a montré dans cette même situation l'expression conjointe de bâillements et comportements stéréotypiques (Fureix et al., 2011a), le bâillement étant un signal ambigu pouvant exprimer de la frustration (Tinbergen, 1952). Davantage d'études à ce sujet sont donc nécessaires pour clarifier la valence de cette situation.

-Indicateurs cognitifs

Löckener et al (2016) ont démontré que des juments au préalable isolées en box individuels, présentaient un biais de jugement optimiste une fois mises au pré en groupe avec des

congénères. Henry et al (2017) ont par ailleurs mis en évidence que des chevaux en état de bien-être étaient plus optimistes que des individus en mal-être. Cependant, il semblerait que l'interprétation de biais de jugement ne soit pas toujours si simple et que la motivation envers une récompense joue un rôle important lors du test. En effet, Briefer-Freymond et al (2014) ont mis en évidence un biais de jugement « optimiste » chez des juments entraînées à l'aide de renforcement négatif (*i.e.* arrêt d'une pression sur le flanc à l'aide d'un stick). Parmi les différentes hypothèses pouvant expliquer ce résultat inattendu, les auteurs ont proposé que ces juments montraient probablement une plus grande motivation à obtenir de la nourriture comparée aux juments ayant été récompensées par de la nourriture tout au long de leur traitement (*i.e.* renforcement positif). Une augmentation de l'attention a été par ailleurs observée avec l'utilisation de renforcement alimentaire lors d'un entraînement et globalement, l'engagement attentionnel (observation calme de l'environnement) est plus important chez des chevaux en bon état sanitaire (Rochais et al., 2014). Un état attentionnel calme (aussi associé à des oreilles plus en avant) pourrait donc en tant que tel constituer un indicateur potentiel d'émotions positives.

Le cheval constitue ainsi un très bon support pour tenter de surmonter les difficultés décrites précédemment concernant la mesure des émotions positives. Par ailleurs, des différences de bien-être ont déjà été établies entre des chevaux vivants dans des conditions plus ou moins favorables, associées à des comportements et postures caractéristiques (Henry et al., 2017). Ainsi l'étude de différents panels de populations permettra d'identifier clairement chez cette espèce des individus plus ou moins enclin à ressentir des émotions positives.

Enfin, pouvoir identifier les états émotionnels des chevaux ainsi que les contextes qui les induisent pourrait être un moyen de mieux informer les propriétaires quant aux restrictions environnementales et interactions homme-animal négatives auxquelles ils exposent leurs chevaux par leur gestion quotidienne (Hötzel et al. 2018).

3.3 Objectifs de l'étude

Cette étude, tournée autour d'un seul et unique axe, s'est focalisée sur la validation et l'identification d'indicateurs d'émotions positives chez le cheval.

Considérant les différentes ambiguïtés évoquées autour des comportements d'anticipation, pourtant majoritairement utilisés dans la littérature comme situations d'expression d'émotions positives, nous avons tout d'abord décidé d'analyser cette situation en détails afin d'en clarifier sa valence.

(i) Une première étude a ainsi été réalisée en centre équestre. Des observations de la situation d'anticipation alimentaire de routine ont été conduites. Après avoir défini les différents comportements exprimés au cours de cette période, nous avons étudié l'impact de différents facteurs (*e.g.* présence de foin, rang de nourrissage, état de bien-être) pouvant moduler leur expression (article 1).

(ii) Dans une seconde étude expérimentale, nous avons tenté de caractériser le déclenchement de l'anticipation et de tester l'impact de l'imprédictibilité sur le comportement des chevaux (article 2).

Dans un second volet, nous nous sommes particulièrement intéressés aux liens existants entre attention et émotion.

(i) Grâce à l'utilisation d'un casque EEG permettant de mesurer les ondes cérébrales des chevaux éveillés et en mouvement, nous avons tout d'abord tenté de caractériser des profils neurophysiologiques selon l'attention portée vers des stimuli de différentes valences (article 3).

(ii) Puis, considérant l'impact des facteurs intrinsèques sur les caractéristiques attentionnelles, nous avons tenté de caractériser les variations des paramètres attentionnels selon l'état de bien-être des individus (article 4).

Enfin dans une dernière partie nous nous sommes focalisés sur l'utilisation des signaux acoustiques, et plus particulièrement les sons non-vocaux, comme indicateurs d'émotions positives.

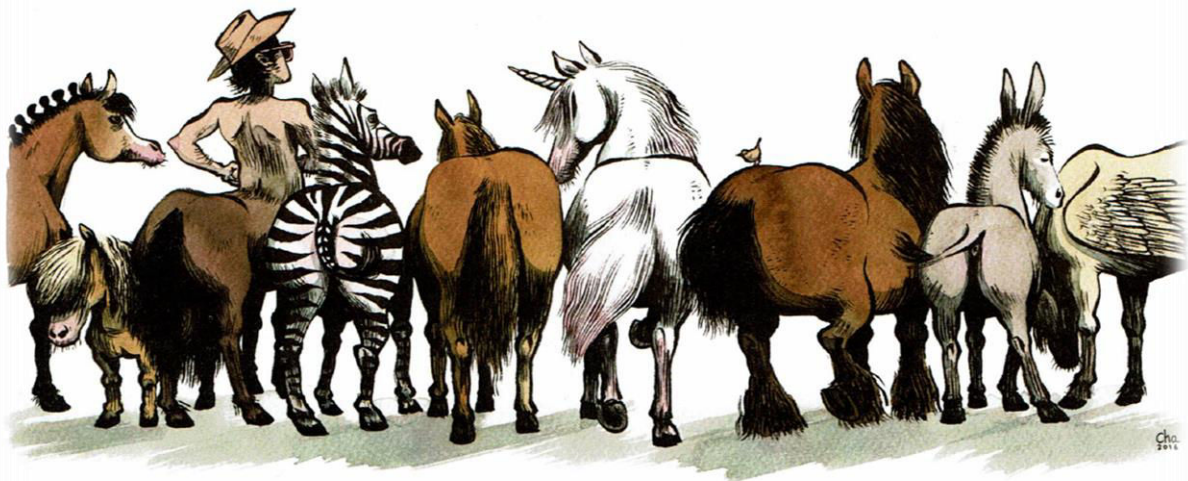
(i) Au cours de notre première étude, nous avons essayé de définir les contextes préférentiels de production des ébrouements. Puis nous avons analysé le lien potentiel entre production d'ébrouements et état de bien-être (article 5).

(ii) Au cours d'une seconde étude, nous avons particulièrement étudié les liens entre contexte de production et variations des paramètres acoustiques des ébrouements (article 6).

(iii) Enfin, la production d'ébrouements a été analysée au cours de sessions d'équitation. L'accent a été mis particulièrement sur les positions des cavaliers et postures des chevaux associées à la production d'ébrouements (article 7).

Chapitre 2

Méthodologie générale



2. METHODOLOGIE GENERALE

Cette partie, décrivant les caractéristiques de l'espèce cheval, a pour but de mieux comprendre le choix du modèle biologique étudié. Par ailleurs, les caractéristiques des différentes populations observées tout comme les méthodes innovantes d'investigation y seront développées. Les protocoles propres à chaque thématique abordée seront détaillés dans les chapitres et/ou articles correspondants.

1) L'espèce cheval

1. 1 Statut phylogénétique

Le cheval domestique (*Equus caballus*) est un mammifère ongulé appartenant à l'ordre des Périssodactyles (*i.e.* qui possèdent un nombre impair de doigts aux membres postérieurs) et à la famille des Equidés (regroupant les chevaux, les ânes et les zèbres) qui se caractérise par la présence de membres postérieurs monodactyles. Il fait partie du genre *Equus* qui regroupe à l'heure actuelle 2 espèces domestiques, le cheval et l'âne domestique (*Equus asinus*), et 7 espèces sauvages réparties en Afrique et en Asie, parmi lesquelles le Kiang (*Equus khiang*), les ânes sauvages d'Afrique (*Equus africanus*) et d'Asie (*Equus hemionus*), le zèbre des plaines (*Equus burchelli*), de montagne (*Equus zebra*), le zèbre de Grévy (*Equus grevyi*) et le cheval de Przewalski (*Equus ferus przewalskii* ou aussi nommé *Equus caballus przewalskii*, éteint à l'état naturel) (Waring 2003).

1.2 Evolution et répartition géographique

Le cheval domestique est le résultat d'une longue histoire évolutive. L'évolution des Equidés a débuté il y a plus de 55 millions d'années en Amérique et en Eurasie. Le plus ancien périssodactyle *sensu stricto* est *Hyracotherium*, de la base de l'Eocène d'Europe et d'Amérique du Nord (-53 M.A.) (Fig.1). *Hyracotherium* mesurait entre 25 et 50 cm au garrot et pesait 5 à

10 kilos. Il se nourrissait de feuillages, de graines et de fruits et était doté de membres graciles avec des pieds à coussinets comportant 4 doigts aux antérieurs et 3 aux postérieurs. Le genre *Equus* est apparu au Pléistocène (-3.5 M.A.) sur le continent nord-américain, puis a migré en Asie, en Europe, en Afrique du Nord et en Amérique du Sud (McFadden 1992, cité par Waring 2003). Il a disparu du continent américain à la fin du Pléistocène (~ 10 000 ans), mais a survécu et s'est diversifié en Asie, en Europe et en Afrique, donnant ainsi naissance aux chevaux, ânes et zèbres actuels.

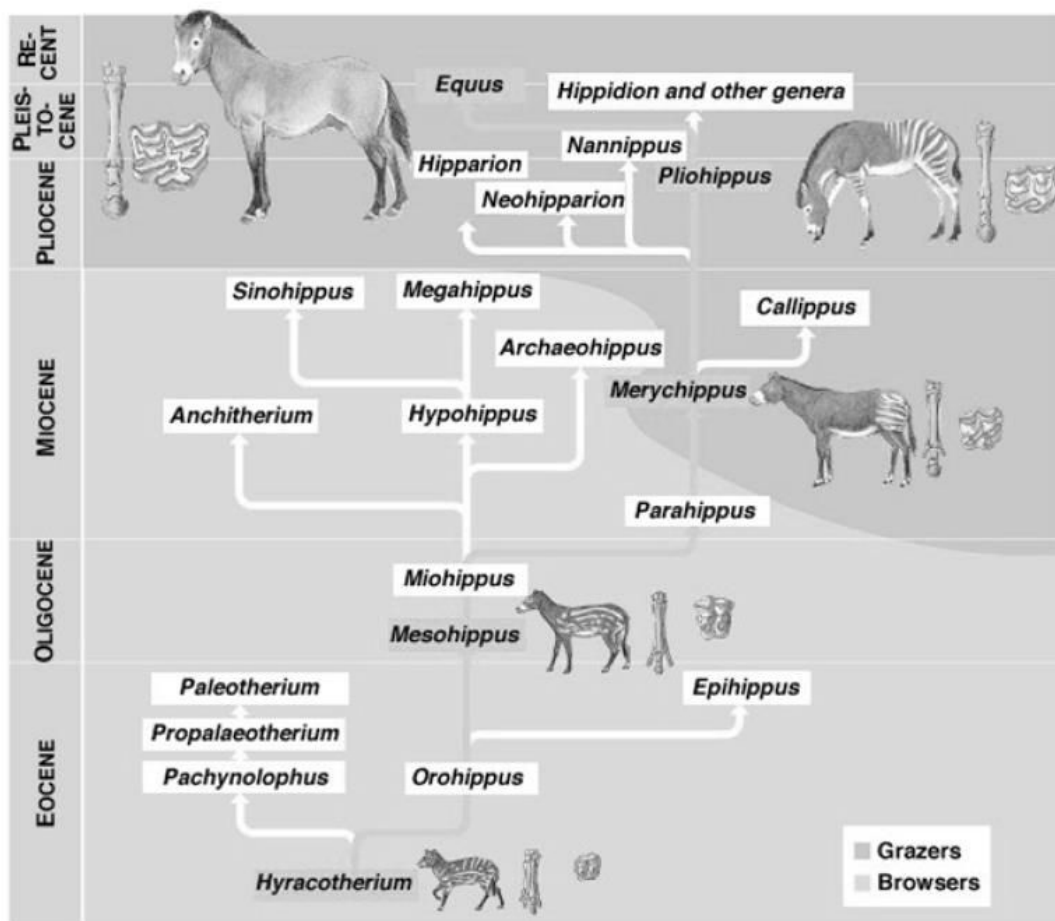


Figure 1 : Arbre évolutif des équidés depuis 55 millions d'année. Les premiers représentants de la famille avaient trois doigts et mangeaient des arbustes (browsers), alors que les équidés actuels ne possèdent qu'un seul doigt et consomment de l'herbe (grazer).

Aujourd'hui, les populations d'équidés sauvages sont en nette régression : sur les espèces sauvages, 5 sont en danger d'extinction (source: UICN). Aujourd'hui éteint à l'état naturel, le cheval de Przewalski n'a survécu en tant qu'espèce uniquement grâce à la reproduction en captivité. Des projets de conservation et réintroduction de cette espèce sont en place depuis une dizaine d'années, en Mongolie notamment.

Les chevaux domestiques ont été introduits par l'homme sur l'ensemble des continents. Il existe par ailleurs, à différents endroits du monde, des populations de chevaux issus du marronnage, i.e. des chevaux d'origine domestique retournés à l'état sauvage (*e.g.* mustangs de l'Ouest américain, brumbies australiens) ou vivant en semi-liberté (*e.g.* chevaux de race Camargue dans le sud de la France, Pottoks du pays basque). D'autres populations domestiques sont gérées de manière naturaliste telle que les Konik polonais, race jugée proche génétiquement des chevaux tarpans, espèce éteinte qui vivaient à l'état sauvage en Europe de l'est. L'étude de ces populations a permis d'appréhender les caractéristiques générales de l'espèce.

1. 3 Caractéristiques de l'espèce en milieu naturel

1.3.1 Budget temps et régime alimentaire

La répartition des activités chez le cheval se concentre principalement sur l'alimentation : sur 24 heures, les chevaux passent entre 15 et 16 heures à s'alimenter, soit 60% à 80% de leur temps. La qualité et la quantité de nourriture disponible ainsi que les besoins énergétiques des individus (gestation, lactation, etc.) peuvent influencer le temps consacré à cette activité. L'alimentation, quasi continue, est toutefois interrompue par des périodes de repos ou d'activités liées à d'autres types de comportement (comportement de maintenance, sociaux ou de reproduction). Ainsi, les individus passent entre 5 à 6 heures à se reposer, 2 à 3 heures à se déplacer et 2 à 3 heures à surveiller l'environnement (i.e. immobile, le cheval balaye son encolure et sa tête afin de « scanner son environnement ») (Boyd 1988; Waring 2003). Par

ailleurs, cette répartition temporelle des activités varie selon l'environnement, la saison, l'âge et le sexe de l'animal (Boyd et Keiper 2005).

En milieu naturel, le cheval vit essentiellement dans des zones où l'alimentation est pauvre en énergie mais variée (steppes, forêts, déserts) et se nourrit alors principalement d'aliments riches en fibres (herbe, feuilles, glands, graines, plantes aquatiques, ...) (Slade et al. 1970; Crane et al. 1997). Son estomac monogastrique lui permet une digestion rapide : l'estomac se vide au bout de 2 à 3 heures (Martin-Rosset 1990), impliquant ainsi des prises alimentaires fréquentes (51 bouchées à la minutes) (Waring 2003). Son mode d'alimentation crée des zones de pelouse très rases broutées intensément, et des zones de refus, où l'herbe est plus haute. En effet, par le moyen de processus attentionnels, le cheval est capable d'identifier et discriminer les ressources dont il a besoin de celles qu'il doit éviter (association des caractéristique de l'aliment avec ses conséquences post-ingestion) (Cairns et al. 2002).

1.3.2 Domaine vital et déplacements

Le domaine vital correspond à une aire géographique sur laquelle un individu évolue afin de répondre à ces besoins vitaux (i.e. nourriture, eau, abris, partenaires sexuels) et dont la taille varie notamment selon la disponibilité en ressources. Chez le cheval, cet espace peut aller jusqu'à 300 km² dans certaines régions arides des Etats-Unis. Les frontières de cet espace ne sont par ailleurs pas défendues, il ne s'agit donc pas d'un territoire. En effet, il est possible d'observer plusieurs groupes familiaux se retrouver autour de ressources limitées (*e.g.* de l'eau) ou pour faire face à des prédateurs (Boyd et Keiper 2005).

Le cheval est une espèce très mobile (il est possible que des individus parcourent jusqu'à 16 km en une journée pour atteindre une ressource éloignée, comme un point d'eau par exemple) (Feist 1971). La locomotion représente environ 3 à 13 % de leur budget temps (*e.g.* chevaux Camargue : 5.5 à 12.7 %, Duncan 1980; chevaux Konik : 3.5 %, Kownacki et al. 1978; chevaux

de Przewalski : 8.5 à 14.1 %, Boyd 1988) et correspond essentiellement à des déplacements lents. Ainsi, le pas exploratoire constitue l'allure prédominante puisqu'il est associé à l'alimentation et facilite la recherche de nourriture (1 pas toutes les 12 secondes en moyenne, Waring, 2003). Les allures plus vives comme le trot et le galop sont beaucoup plus ponctuelles (*e.g.* 0.29 % du budget-temps, Duncan, 1980) et principalement observées lors d'un événement stressant ou pendant les séquences de jeu (McDonnell et Poulin 2002).

1.3.3 Structure et organisation sociale

Le cheval est une espèce sociale où les individus s'organisent principalement autour d'un groupe familial ou harems constitué d'un ou deux (le plus souvent) étalons reproducteurs, de une à cinq juments ainsi que leurs progénitures de l'année en cours et de l'année précédente (Feist et McCullough 1976; Klingel 1982; Feh 2005; Fureix et al. 2012a). Généralement, les harems sont formés d'une dizaine d'individus, même si ce chiffre peut varier d'un groupe à l'autre (de 2 à 20 chevaux) (Waring 2003). A l'âge de 2 ans en moyenne, les jeunes mâles et jeunes femelles quittent le groupe familial (Rutberg et Keiper 1993; Monard et Duncan 1996; Boyd et Keiper 2005). Les femelles, rejoignent un harem déjà existant ou un mâle célibataire pour former un nouveau groupe familial, tandis que les jeunes mâles rejoignent un groupe de mâles célibataires composés d'étalons sexuellement matures, mais non reproducteurs (de 2-15 étalons). Il s'agit soit de jeunes (3-5 ans) qui n'ont pas encore créé de famille, soit de vieux étalons en fin de vie reproductive (Boyd 1988). Une autre forme moins courantes de groupe, quoique peu stable et temporaire, formé de sub-adultes mixtes non reproducteurs et mâles solitaires peut exister par ailleurs (Waring 2003).

L'organisation sociale d'un groupe repose sur l'établissement d'une hiérarchie de dominance permettant de réduire les tensions entre individus. Les animaux dominants ont accès en priorité à une ressource donnée quand elle est restreinte. Le statut hiérarchique de chaque membre du

groupe étant connu, les épisodes agressifs sont peu fréquents et la plupart du temps des signaux subtils (*e.g.* oreilles plaquées en arrière) suffisent pour éviter les conflits (Rutberg et Greenberg 1990; Heitor et al. 2006). Le rang de dominance peut être influencé par différents facteurs dont les principaux sont l'âge (Tyler 1972; Feist et McCullough 1976; Wells et Goldschmidt-Rothschild 1979; Houpt et Keiper 1982), l'ancienneté dans le groupe (Tyler 1972; Monard et Duncan 1996) et pour les jeunes le rang de dominance de la mère (Feh 1999).

Des affinités particulières entre certains membres du groupe s'établissent. Un individu a en général entre un et trois partenaires préférés (Feh 2005) à côté desquels il est plus souvent observé (proximité spatiale) et avec lesquels il effectue plus de toilettage mutuel et autres contacts socio-positifs (Feh et de Mazières 1993; Boyd et Keiper 2005; Feh 2005). La force de ces liens peut cependant être affectée par des changements affectant l'individu tels que le statut reproducteur, le stade de maturation, la santé, ou encore l'expérience.

1.3.4 Communication

La socialité implique l'établissement d'une communication entre les différents membres du groupe. Chez le cheval, la communication est multimodale : impliquant à la fois les canaux acoustique (Kiley 1972; Lemasson et al. 2009; Briefer 2012; Maigrot et al. 2017), olfactif (Rubenstein et Hack 1992; Saslow 2002), tactile (Feh et de Mazières 1993; Fureix et al. 2012a), et visuel (Waring 2003). Le « langage corporel » fait partie intégrante de la communication chez le cheval, basé sur des postures où chaque partie du corps : port de tête, d'encolure, naseaux, position des oreilles, etc., est porteuse d'informations sur l'émetteur et plus particulièrement sur son état émotionnel (intensité et valence). Par exemple, lorsqu'un cheval hennit, c'est-à-dire en cas de séparation sociale, son museau est légèrement élevé, sa bouche ouverte, ses naseaux dilatés et ses oreilles pointées vers l'avant. En revanche, lors de la production d'un nicker, souvent associée à une anticipation alimentaire, la bouche est fermée,

les naseaux relâchés, et les oreilles mobiles (Stevenson 1975). Les signaux visuels, plus subtiles, impliquent particulièrement des variations de la position des oreilles, des mouvements de bouche, de naseaux ou globalement de la tête qui permettent de transmettre des messages allant de la menace à l'intention de contacts positifs. Par ailleurs, une certaine graduation apparait dans l'émission de ces signaux et le passage d'une posture à une autre est progressif (Fig.2) (Waring 2003).

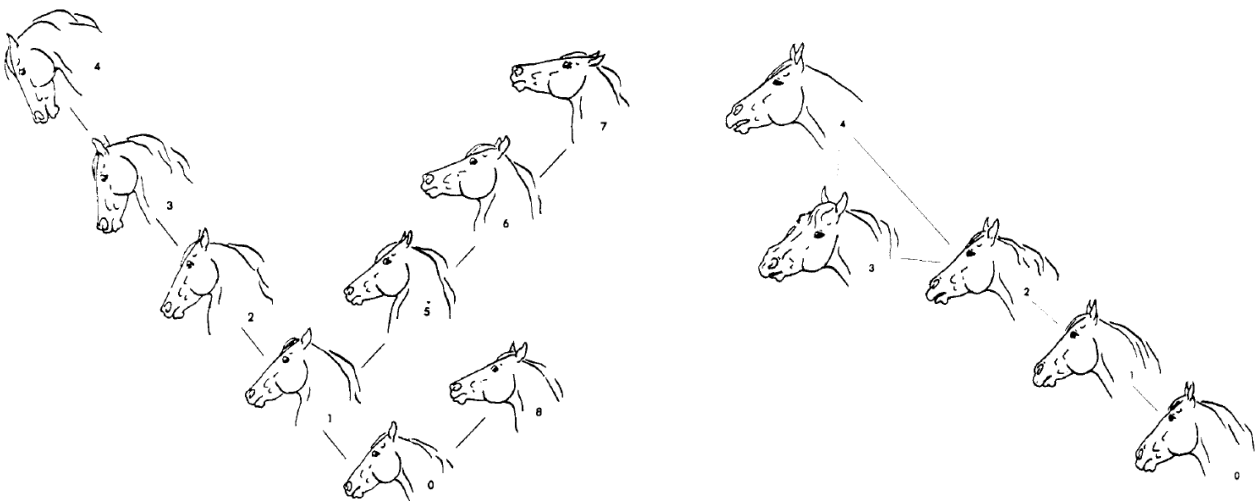


Figure 2 : Expression d'alarme (à gauche) et de plaisir sensuel (à droite) (d'après Waring, 2003).

1.4 Le cheval en condition domestique

1.4.1 La domestication

Biologiquement parlant, la domestication peut être considérée comme un processus évolutif conduisant à l'adaptation des animaux à leur environnement captif. Ce processus implique l'apparition de modifications génétiques entre les générations, ainsi que d'événements développementaux induits par l'environnement de façon récurrente (Price 1999). En revanche, du point de vue des archéologues, la domestication a longtemps été considérée comme un

processus complexe, confiné à une aire géographique et une culture restreintes (Vilà et al. 2001). Les premières traces de domestication du cheval remontent à la fin du Néolithique (environ 3500 ans avant notre ère), époque à laquelle vivaient la civilisation Botai, au nord du Kazakhstan. Utilisé pour sa viande et également son lait (Outram et al. 2009), des traces artistiques ou encore des vestiges osseux et d'équipement semblent indiquer que depuis très tôt déjà le cheval était aussi monté (traces d'usure des prémolaires inférieures attesteraient de l'utilisation du mors) et servait de traction d'engins (Levine 2005). D'après Vilà et al (2001), l'ancêtre commun des lignées de chevaux modernes vivait probablement entre il y a 630 000 et 320 000 ans, ce qui signifie qu'aujourd'hui les chevaux domestiques ne sont pas tous les descendants d'une même population et que plusieurs populations sauvages auraient ainsi évoluées indépendamment les unes des autres, aboutissant à des ADN mitochondriaux distincts pour chacune des lignées (Jansen et al. 2002). Cette domestication semblerait donc s'être produite en différents endroits d'Eurasie.

Après avoir été utilisé de très nombreuses années comme moyen de transport majoritaire ou encore comme outil de guerre, l'utilisation du cheval se résume aujourd'hui quasiment exclusivement au sport, au loisir et depuis peu à la thérapie via la médiation animale. Dans certaines régions du globe, les chevaux sont également toujours utilisés en agriculture comme moyen de traction, et également comme moyen de transport (Pritchard et al. 2005). Son utilisation dans les pays industrialisés se répartit aujourd'hui entre l'équitation sportive et récréative (689044 licenciés en 2014 en France, source : Fédération Française d'Equitation), l'élevage et la production alimentaire (viande, lait) (Endenburg 2010). Il existe actuellement plus de 200 races de chevaux et poneys domestiques, qui se distinguent par leur localisation géographique, leur morphologie, leur taille, leur tempérament et leur utilisation.

Selon certains auteurs, la domestication n'aurait pas ou peu altérée les traits comportementaux et physiologiques basiques de l'espèce, de sorte que les chevaux domestiques pourraient

aujourd'hui aisément s'adapter à une vie sauvage (Kiley-Worthington 1997; Waring 2003). Cependant, force est de constater que la vie domestique conduit à établir un compromis entre la qualité de vie de l'animal et les intérêts commerciaux et pratiques de son propriétaire et/ou soigneur, aboutissant alors à une restriction globale et commune des besoins primordiaux de l'espèce (alimentaires, sociaux, spatiaux) décrits précédemment. D'un point de vue comportemental, ceci n'est pas sans conséquences et la présence de certains comportements, ainsi que leur fréquence et durée, peuvent en être modifiées (*e.g.* Benhajali et al. 2008; Hausberger et al. 2012). De même, des comportements non exprimés en conditions naturelles peuvent alors émerger, tels que les comportements anormaux répétés (Mason 1991; McGreevy et al. 1995; Nicol 1999; Mills 2005).

Un ensemble d'études, réalisées sur un grand nombre de chevaux vivants en conditions domestiques, ont permis d'établir un constat assez général des atteintes au bien-être directement liés à aux conditions de vie apportées aux animaux. Ainsi, 34% des chevaux étudiés avaient au moins un problème de santé chronique, 18% étaient anémiés, 73% présentaient des problèmes de dos, 66% exprimaient au moins un comportement répété anormal et 29% étaient agressifs envers l'homme (Jeffcott et al. 1999; Landman et al. 2004; Lesimple et al. 2010; Fureix et al. 2010b, 2011a; Hausberger et al. 2016). A cela s'ajoute une étude épidémiologique réalisée sur 306 individus observés dans 20 centres équestres différents démontrant que 68% des chevaux étudiés avaient une blessure, 41% présentaient des symptômes de dépression et 35% réalisaient des comportements anormaux répétés et des comportements stéréotypiques (Lesimple et al. 2016b). Ces différents aspects seront détaillés ci-dessous où nous nous focaliserons uniquement sur les chevaux adultes.

1.4.2 Restriction alimentaire

En condition domestique, le régime alimentaire des chevaux est constitué principalement d'aliments concentrés à forte valeur nutritionnelle et de peu de fourrage. Par ailleurs, le nombre de repas par jour est très limité (de 1 à 3), or le cheval étant pourvu d'un estomac monogastrique qui se vide au bout de 2 à 3 heures, sa physiologie nécessite une alimentation quasi-constante d'aliments riches en fibres et pauvres en énergie (Martin-Rosset 1990; Harris 2007).

Ce contraste évident entre besoins et réalité peut amener à de sérieux problèmes comportementaux et physiologiques. Tout d'abord, la nature de l'alimentation est cruciale dans l'expression des comportements réalisés par le cheval. Augmenter l'apport en fibres permet par exemple de réduire les comportements anormaux et augmenter les opportunités de réaliser des activités propres à l'espèce (Haenlein et al. 1966; Willard et al. 1977; McGreevy et al. 1995; Cooper et Mason 2010). De plus il a été montré que l'apport de fourrage dans un paddock nu à forte densité permet de rééquilibrer le temps consacré à ces différentes activités (augmentation du temps d'alimentation et diminution du temps en locomotion, en repos et vigilance) (Benhajali et al. 2009, 2014). De même, l'augmentation de la diversité alimentaire (plusieurs types de fourrage) permet de réajuster le budget temps des individus en se rapprochant davantage de celui observé en conditions naturels : cela permet d'augmenter le temps passé en alimentation et de diminuer le temps passé à faire des comportements stéréotypiques et à se déplacer dans le box (Ninomiya et al. 2004, 2007; Thorne et al. 2005). En effet, le temps dédié au comportement alimentaire joue également un rôle majeur à la fois sur le budget temps des comportements réalisés par l'animal, mais aussi sur son état de santé. Des prises alimentaires limitées dans le temps vont induire un fonctionnement « à vide » du système digestif, et peuvent provoquer une augmentation de l'acidité dans l'estomac favorisant ainsi l'apparition d'ulcères et autres dommages stomacaux d'une part (*e.g.* Murray et Eichorn 1996; Tinker et al. 1997; Nicol et al. 2002) et d'autre part de comportements stéréotypiques (McGreevy et al. 1995;

Waters et al. 2002; Bachmann et al. 2003). Récemment une étude a comparé trois systèmes d'approvisionnement du foin dans le box (déposé sur le sol ; dans un sac accroché au mur ; dans un bac « slow feeder », comprenant une plaque à trous permettant une ingestion plus lente de la nourriture, placé dans un coin du box) et a démontré que l'utilisation d'un « slow feeder » permettait non seulement d'augmenter le temps passer en alimentation, mais également de diminuer les comportements indésirables tels que les stéréotypies et les comportements de frustration et d'augmenter les réactions positives envers l'homme (Rochais et al. 2018a).

1.4.3 Restriction spatiale

Les conditions d'hébergement des chevaux domestiques adultes impliquent très souvent des restrictions spatiales. En effet, le type de logement le plus commun aux établissements équestres reste le box individuel d'une surface inférieure à 10 m² la plupart du temps (Idée, 2013 pour l'Institut français du cheval et de l'équitation). Des variations existent dans l'agencement de ces espaces confinés permettant un accès plus ou moins limité (vue et contacts) aux partenaires sociaux, tout comme à la quantité de lumière reçue. Le substrat fourni peut être de différentes natures également, allant du béton à la paille en passant par les copeaux de bois ou le papier. Des tests de choix ont permis de montrer que des poneys montraient une préférence pour les copeaux de bois en comparaison à une simple surface de béton (Hunter et Houpt 1989). De même, des chevaux choisissaient significativement plus souvent un box recouvert de paille plutôt que de copeaux de bois (Mills 2000). Des espaces extérieurs de type paddock/pré peuvent également être disponibles, cependant leur surface demeure relativement petite (en comparaison de la taille du domaine vital du cheval) et offre peu de stimulations sensorielles car souvent dépourvues de ressources alimentaires (Benhajali et al. 2008). En revanche ils permettent l'exercice et les déplacements et une étude a montré, à l'aide de tests de choix, que

les individus préféraient l'exercice libre en paddock à l'absence d'exercice en box (Lee et al. 2011).

Ces différentes restrictions découlant du type d'hébergement peuvent entraîner l'apparition de signaux de mal-être et modifier complètement le budget-temps habituel de l'espèce. En effet, Benhajali et al (2008) ont constaté qu'en paddocks à forte densité et dépourvus de fourrage, les individus ne se roulaient pas et ne reposaient pas de façon couchée. A l'inverse, l'augmentation de la taille du paddock permet d'augmenter le temps passé en alimentation au pas exploratoire et de diminuer le temps passé inactif (Jørgensen et Bøe 2007). De plus, lorsque la taille des boxes est augmentée (2.5 fois la taille du cheval), les animaux passent plus de temps en repos couché que lorsqu'ils sont placés dans de petites boxes (1.5 fois leur taille) (Raabymagle et Ladewig 2006). Enfin, la diminution de l'espace de vie disponible augmente le taux de comportements anormaux répétés et stéréotypiques (Rivera et al. 2002; Parker et al. 2008), l'agitation au travail (Lesimple et al. 2016a) ou lors de la mise au paddock (Chaplin et Gretgrix 2010) et le temps nécessaire à l'apprentissage d'une tâche (Rivera et al. 2002). En effet, à l'aide de tests de choix, Lee et al. (2011) ont pu démontrer que les chevaux préféraient généralement être dans un paddock, même seul, plutôt qu'isolé dans un box. Le confinement est souvent associé à une restriction sociale, qui peut elle aussi avoir un impact important sur le bien-être du cheval.

1.4.4 Restriction sociale

La plupart du temps, l'environnement proposé par l'homme aux chevaux vivant en captivité (*i.e.* box individuel dans la grande majorité des établissements équestres) réduit considérablement les possibilités de contacts sociaux.

Or, les besoins de liens sociaux sont très importants chez cette espèce et se traduisent par une recherche active d'un partenaire social en conditions naturelles (Waring 2003). En effet, dans

une étude cherchant à tester la force de motivation de juments à accéder à des boxes leur permettant des contacts sociaux, Søndergaard et al (2011) ont montré que les individus montraient une forte motivation pour un accès à tout contact social, quel qu'il soit (complet, tête, museau), plutôt qu'aucun contact. De la même manière, Swann (2006) a démontré que des ânes utilisés au transport de matériaux en Inde, isolés socialement au cours de leur journée de travail, préféraient en priorité interagir avec leurs congénères une fois relâchés, avant même d'accéder à un point d'eau. Une étude visant à évaluer les réactions comportementales de chevaux hébergés pour la première fois au box a comparé un hébergement individuel à un hébergement en paire. Au bout d'une semaine déjà, les individus isolés passaient moins de temps en alimentation mais davantage de temps en vigilance ou au repos, et exprimaient plus de comportements reflétant un stress (pawing, mordiller le mur et la mangeoire) (Visser et al. 2008). Il n'est donc pas surprenant de constater que l'environnement social peut avoir un impact important sur le bien-être des équidés et l'apparition d'indicateurs de mal-être. Des études ont par exemple observé davantage d'agressivité entre des individus quotidiennement isolés une fois confrontés les uns avec les autres, ou lors de séances de travail (Rivera et al. 2002; Søndergaard et Halekoh 2003a; Søndergaard et Ladewig 2004). En effet, les conditions domestiques induisent souvent des changements récurrents dans la composition des groupes au paddock selon l'utilisation des chevaux (Grogan et McDonnell 2005). Or, les individus recevant le plus d'agressions sont souvent les derniers arrivés dans le groupe (Arnold et Grassia 1982). Ainsi, ce mode de fonctionnement augmente les chances d'épisodes d'agressions entre les individus. Il a d'ailleurs été observé que, de manière générale, les individus vivant en groupe sont plus faciles à manipuler et entraîner (Rivera et al. 2002; Søndergaard et Ladewig 2004), probablement dû à un apprentissage via des interactions sociales avec les congénères, les chevaux étant alors plus attentifs aux signaux des autres, y compris ceux de l'entraîneur (Søndergaard et Ladewig 2004). Enfin, la privation sociale peut conduire à l'apparition de

comportements stéréotypiques (McGreevy et al. 1995; Redbo et al. 1998; Nicol 1999). Broom et Kennedy (1993) ont d'ailleurs décrit que le taux de stéréotypies augmentaient dans cet ordre de situation : chevaux regroupés dans un grand espace au pré, chevaux hébergés en groupes en stabulation avec peu d'espace, cheval isolé en box avec possibilité de voir et de toucher des congénères, cheval isolé en box avec possibilité de voir et de toucher des congénères, cheval isolé en box avec possibilité de voir des congénères sans possibilité de contact, cheval isolé avec aucun autre partenaire social présent.

1.4.5 Interaction et relation à l'homme

Outre son action indirecte via le choix des conditions de vie de l'animal (alimentation, hébergement, etc., ...), l'homme fait partie intégrante de la vie du cheval domestique de par son omniprésence dans son environnement tout au long de sa vie. Il est donc indéniable que son comportement et ses actions quotidiennes auront un impact sur la perception de l'homme par le cheval et donc sur la relation établie avec l'animal (Waiblinger et al. 2006; Hausberger et al. 2008). Une relation se définit comme le lien établi entre deux individus résultant d'une série d'interactions, basé à la fois sur des expériences passées et aussi sur l'attente des réponses de l'autre (Hinde 1979). De la nature de cette relation découlera une perception soit positive, neutre ou négative de l'homme par le cheval qui se traduira sur le plan comportemental par des réactions différentes, telles que des approches et une recherche de contact si l'homme est source d'émotions positives ou à l'inverse des évitements, voire des réactions agressives si l'homme est perçu comme une source d'émotions négatives (Hausberger et al. 2008; Fureix et al. 2009). Les chevaux sont capables de généralisation de la « représentation » de l'homme comme source d'émotion positive ou négative. En effet, des études ont mis en évidence des différences interindividuelles de réaction émotionnelle à un expérimentateur non-familier. Les conditions de vie des individus étant identiques entre les chevaux, les auteurs ont suggéré que le comportement du soigneur envers son cheval pouvait avoir une influence sur ces réactions lors

du test (Hausberger et al. 2004) et effectivement, des réactions similaires des chevaux d'un même soigneur ont été observées lors des tests de réaction à l'homme (Hausberger et Muller 2002). Dans le cas où la présence humaine est associée à un stimulus positif, telle que de la nourriture, la relation entre l'homme et l'animal est positive. Cela peut se traduire par des comportements d'approche, des recherches de contacts (Sankey et al. 2010b, c, a). A l'inverse, une succession d'associations entre homme et stimuli négatifs, tels que des événements stressants, pourrait aboutir à une relation négative, se traduisant par des comportements d'évitement voire agressifs envers l'homme (Fureix et al. 2010b). Des études testant la réaction des chevaux à des objets associés à différentes expériences vécues avec l'homme ont mis en évidence une réticence à approcher des objets liés à des expériences négatives (soins vétérinaires, travail) (De Boyer Des Roches et al. 2008; Fureix et al. 2009). Ces résultats signifient que toute action de l'homme laisse un souvenir où chaque événement est associé à sa valence (Hausberger et al. 2008; Fureix et al. 2009). De plus, il semblerait qu'un souvenir négatif d'une interaction avec l'homme soit d'autant plus marquant qu'un souvenir positif de cette interaction, allant même jusqu'à complètement gommer en mémoire l'expérience positive précédemment vécue.

La réaction du cheval à un homme est par ailleurs un indice fiable de bien-être. En effet, une agressivité envers l'homme peut témoigner de douleurs chroniques, du dos notamment (Fureix et al. 2010b; Hausberger et al. 2016), dues à un mauvais ajustement et/ou usage des équipements (selle, mors) lors des séances de travail (Cook 1999; Jeffcott et al. 1999; McGreevy et McLean 2005). Les chevaux vont en effet ensuite associer le souvenir douloureux ressenti au cours de la séance de travail à la présence de l'homme (Fureix et al. 2009).

1.4.6 Cheval et travail

De la même manière, le travail peut laisser une trace positive ou négative en mémoire, en fonction de sa qualité. Une étude a d'ailleurs mis en avant des réactions négatives de chevaux

à la vue d'objets liés au travail (*i.e.* selle, filet) (Fureix et al. 2009). Le type de renforcement choisi peut être alors capital dans l'encrage en mémoire des événements au cours de l'apprentissage : l'utilisation d'un renforcement positif a été reconnue comme étant un élément permettant d'améliorer les performances attentionnelles, d'apprentissage et de mémorisation (Sankey et al. 2010b, c, a; Rochais et al. 2014). Cependant, il semblerait que la nourriture soit le renforcement le plus efficace. En effet, des études ayant testé l'impact des stimulations tactiles (*e.g.* caresses, grattage au niveau du garrot) n'ont pas réussi à clairement montrer d'amélioration ni de la motivation à apprendre ni de la relation homme-animale avec ce type de renforcement (Watson et McDonnell 2018), ou du moins ont démontré qu'il n'était pas aussi efficace qu'une récompense alimentaire (Sankey et al. 2010a; Rochais et al. 2014). La plupart des entraîneurs continuent aujourd'hui à utiliser des renforcements négatifs (*e.g.* cravache) dont l'utilisation peut amener à l'apparition de phénomènes indésirables (stress élevé, risque d'accident, (Boyd et Keiper 2005; Waran et Casey 2005)).

Par ailleurs, un lien direct a pu être établi entre type de travail et état de bien-être chez le cheval : bien que vivant dans les mêmes conditions de vie, les chevaux de dressage expriment davantage de comportements stéréotypiques que les chevaux de saut d'obstacle ou de voltige (Hausberger et al. 2009, 2011), de même que les chevaux montés de manière traditionnelle (English style) comparés au style western (Normando et al. 2011). Effectivement, les paramètres d'équitation semblent avoir une influence majeure sur l'émergence des stéréotypies et comportements anormaux répétés (Lesimple et al. 2016a). Aussi, Lesimple et al. dans une étude étudiant les postures de cavaliers débutants lors de cours d'équitation, ont démontré que les troubles dorsaux (problèmes vertébraux) étaient directement liés aux postures du cavalier (*e.g.* hauteur des mains et des talons, longueur des reines) : des mains et des talons hauts ainsi que des reines courtes favorisent des problèmes vertébraux chroniques au niveau du dos (Lesimple et al. 2010). Ceci signifie que le cheval peut associer le travail (*e.g.* leçon d'équitation) avec un état émotionnel

négatif (Lesimple et al. 2013, 2016a), si les techniques d'équitation sont inappropriées. De plus, au-delà de la douleur ou de l'inconfort potentiellement vécus, le travail peut être également assimilé à d'autres événements négatifs tels que la séparation sociale, la contrainte physique, des ordres contradictoires ou une mauvaise utilisation de la punition de la part du cavalier (*e.g.* McGreevy et McLean 2005; Hausberger et al. 2008; König Borstel et al. 2017). Ces dommages peuvent avoir ensuite un impact sur les capacités cognitives des individus. Les chevaux de dressage capables de réaliser des exercices avancés comme le piaffer par exemple (*i.e.* trot sur place diagonalisé, relevé, rond et suspendu dans lequel le cheval se projette en cadence d'un diagonal sur l'autre) ont montré des capacités d'apprentissage moindres en comparaison à des chevaux d'autres disciplines (*e.g.* saut d'obstacle, voltige), suggérant alors que le conditionnement pour effectuer ce genre de tâche ne laisse plus de place à d'autres types d'apprentissages (Hausberger et al. 2004).

Pour conclure, les conditions de vie domestique amènent de nombreuses restrictions, souvent concomitantes, qui peuvent ainsi, du fait de leur accumulation, aboutir à une altération modérée à sévère de l'état de bien-être des individus. Différents profils d'expression du mal-être peuvent alors se dessiner, allant parfois jusqu'à un comportement de résignation acquise voire à des symptômes assimilables à ceux de la dépression chez l'Homme, se traduisant par de l'anhédonie, de l'apathie ou encore un retrait sensoriel (Hall et al. 2008; Burn et al. 2010; Fureix et al. 2012b). Par conséquent, il est judicieux de se questionner quant à l'humeur et les possibilités de ressentir des émotions positives chez ces chevaux, en comparaison à des individus évoluant dans un environnement plus favorable. Par ailleurs, la relation que le cheval domestique entretient avec l'homme, à travers le travail notamment, peut avoir un impact sur la perception qu'il aura de son environnement ainsi que sur les caractéristiques intrinsèques de

l'animal, telle que ses capacités cognitives. Pour ces différentes raisons, le cheval domestique constitue un modèle biologique pertinent aux vues des objectifs fixés dans ce travail de thèse.

2) Méthode

Au cours de cette thèse, nous avons été amenés à étudier différentes populations de chevaux aux conditions de vie variées. D'autre part, l'utilisation et le développement de méthodologies innovantes ont été réalisés afin de répondre de la meilleure façon possible aux objectifs que nous nous sommes fixés.

2.1 Animaux et sites d'étude

2.1.1 Des populations aux conditions de vie différentes

Trois types de populations ont été inclus dans ce travail de thèse : un premier groupe de chevaux vivants en conditions semi-naturalistes, une population de chevaux de centre équestre maintenus dans des conditions domestiques classiques incluant de nombreuses restrictions, et enfin une population expérimentale permettant un niveau de contrôle plus important des paramètres étudiés (Tableau 1).

- Des chevaux de loisir

Afin de disposer d'animaux vivant en conditions très peu restrictives et donc plus favorables à un état de bien-être et à l'expression d'émotions positives, nous avons observé 14 individus adultes (7 étalons, 2 hongres et 5 juments, âgés de 4 à 25 ans, de races diverses) vivants en groupes stables de 2 à 4 individus dans de grandes prairies naturelles de 1 à 5 hectares, composées essentiellement de graminées, de légumineuses (principalement des Fabacées, *e.g.* genêt, ajonc d'Europe) et de quelques conifères et arbres à feuilles caduques (*e.g.* hêtre) (Fig. 3). Les chevaux étaient occasionnellement montés pour de l'équitation de loisir (mains basses,

rênes longues) et habitués à être manipulés par l'homme. Par ailleurs régulièrement observés dans le cadre d'une formation continue dispensée par l'université de Rennes 1, les individus étaient parfaitement habitués à la présence d'un observateur dans leur prairie. L'ensemble des chevaux ont été mis à disposition par deux propriétaires, dont la station biologique de l'université de Rennes 1, et ont été observés à Paimpont en Bretagne. Ce travail de thèse étant concentré sur l'étude des chevaux adultes, les jeunes chevaux âgés de 3 ans et moins n'ont pas été pris en compte dans les observations de cette population.



Figure 3 : Population de chevaux vivants en conditions semi-naturelles, Paimpont, France.

- Des chevaux de centre équestre

Dans le but de pouvoir étudier des individus vivant dans des conditions plus restreintes à plusieurs niveaux (alimentation, espace disponible, contacts sociaux) et dont l'état de bien-être et les chances d'exprimer des émotions positives sont par conséquent potentiellement plus altérés, des chevaux vivants en centre équestres ont été inclus dans ce travail de thèse. En effet, de nombreuses données déjà récoltées par notre équipe de recherche lors des années précédentes (Thèses de C. Fureix, 2010 et de C. Lesimple, 2012) ont montré un état de mal-être avéré chez

les individus de ce type de population. Cependant, ces travaux ont également révélé que l'état de bien-être était plus altéré chez certains chevaux que chez d'autres. Ce spectre d'individus permet ainsi de disposer d'un gradient d'altération de l'état de bien-être, permettant d'affiner nos analyses.

Les sites étudiés étaient représentatifs des conditions et de l'état de bien-être/mal-être rencontrés par les chevaux de centre équestres « classiques » en France (Lesimple et al. 2016b) (Fig.4). En effet, les chevaux étaient hébergés la majorité du temps en box individuel n'autorisant pas de contacts avec des congénères, sortaient peu d'heures par jour au pré/paddock, et étaient nourris de concentrés deux fois par jour. De plus, une portion de fourrage (plus ou moins importante selon le centre équestre) était distribuée une fois par jour. Ce contexte de vie inclus par ailleurs l'utilisation des chevaux dans des reprises d'équitation, permettant alors d'ajouter à la fois une condition d'observation supplémentaire, mais également un autre type de relation à l'homme. Ainsi ont été intégrés dans nos travaux 164 chevaux (89 hongres et 75 juments, âgés de 3 à 30 ans, de races diverses) vivants dans 18 centres équestres différents, travaillant de 4 à 14h par semaine ($X=10.2\pm 2.4$ h). Parmi les 18 centres équestres concernés, deux d'entre eux ont été particulièrement étudiés (Fig.4) : CE1 (N=19) et CE2 (N=18), où l'ensemble des individus a été observé, à l'exception :

- des animaux présentant des gênes respiratoires.
- des chevaux étant sur site depuis moins de 6 mois, afin d'homogénéiser les expériences des animaux avec les lieux et les personnes du site.
- des chevaux devant quitter le site en cours d'étude.

Ainsi, 4 chevaux des centres CE1 et CE2 ont été exclus des observations.

Si les établissements de type centre-équestre présentent de nombreux avantages lorsque l'on s'intéresse à l'impact de différents modes de gestions sur le bien-être du cheval, de fortes

contraintes se sont aussi présentées, en particulier au niveau de la standardisation des animaux évalués. En effet, il est difficile de contrôler parfaitement la race, le sexe et l'âge des chevaux mis à notre disposition et il nous a été impossible de connaître les expériences antérieures des animaux. Enfin, d'un point de vue purement statistique, cette approche ne permet pas de planifier a priori les effectifs des groupes considérés pour les analyses (*e.g.* animaux agressifs envers l'homme ou non, chevaux exprimant des comportements stéréotypiques ou non).



Figure 4 : Conditions d'hébergement classiques observées dans les centres équestres étudiés.

- Chevaux de la station expérimentale de Chamberet (France)

Afin de disposer d'une population où les conditions ainsi qu'un certain nombre de paramètres (*e.g.* sexe, âge, race) peuvent être contrôlés et modulés à la demande, des chevaux de la station expérimentale de Chamberet ont été étudiés dans le cadre de cette thèse, de février à avril 2017. La station expérimentale des Haras Nationaux est un site appartenant à l'institut français de cheval et de l'équitation (IFCE). Cette station de recherche, majoritairement dédiée à l'élevage, s'étend sur une superficie de 135 hectares (Fig.5). Située à Chamberet en en Corrèze, elle

possède près de 150 chevaux dont une soixante de juments et leurs poulains de 0 à 3 ans. Tout au long de l'été les chevaux sont maintenus en groupes dans de larges pâtures, puis sont rentrés en grandes stabulations pour l'hiver. Lors des mises-bas, les juments sont logées en box de 4x4m pendant environ 1 mois.

Ainsi, seize juments Anglo-arabes non gestantes âgées de 8 à 12 ans ont été incluses dans nos travaux, toutes issues d'un même groupe vivant ensemble au pré la nuit et rentré en box individuel le jour. Les juments étaient régulièrement manipulées dans le cadre de procédures de routine (*e.g.* pesée hebdomadaire), mais pas utilisées pour le travail. Toutes les juments étaient présentes sur la station depuis leur naissance.



Figure 5 : Station expérimentale de Chamberet, Corrèze, France.

Au total, cette étude a porté sur 194 chevaux provenant de 20 sites différents comprenant 7 étalons, 91 hongre et 96 juments, âgés de 3 à 30 ans, dont 11.3% d'Anglo-arabes, 6.7% de Selle-français et 82% de chevaux de races diverses ou non constatées.

Tableau 1 : Récapitulatif des sujets étudiés en relation avec le contexte expérimental. m=mâle, j=jument, h=hongre, AA=anglo-arabe, SF=selle français, PFS=poney français de selle, PSA=pur-sang anglais, VAT=test d'attention visuelle, EEG=électroencéphalographie.

Animaux d'étude						Contexte expérimental							
Population	Site	N	Sexe	Race	Conditions de vie	Conditions de travail	Question	Evaluation du bien-être	Enregistrement des ébranchements	Mesure des comportements d'anticipation	Mesure de l'attention		
Chevaux de loisir	Painpont	14	7 m, 2 h, 5 j	diverses	En groupe stable au pré	Loisir (balade)	Etat interne et production d'ébranchements Variation de l'activité cérébrale en fonction de l'état attentionnel et de la valence d'un stimulus	X	X				X
Chevaux de centre équestre	18 CE différents en France	164	89h, 75 j	PFS=24, SF=14, PSA=6, OI=25, diverses	Box individuel	Cours d'équitation 4-14h/ semaine	Etat interne et production d'ébranchements Etat interne et comportements d'anticipation Etat chronique et caractéristiques attentionnelles	X	X	X	X	X	
Chevaux de la station expérimentale	Chamberet	16	j	AA	En groupe stable au pré la nuit, en box individuel le jour	-	Etat interne et comportements d'anticipation			X	X		

2.2 Méthode de travail

L'un des objectifs principaux de cette thèse a été de mettre en avant des indicateurs d'émotions positives chez le cheval. Comme nous l'avons vu en introduction, encore peu de marqueurs ont été clairement identifiés au jour d'aujourd'hui. Ainsi, ce travail s'est caractérisé par l'utilisation de méthodologies innovantes, notamment concernant les travaux menés dans les axes 2 et 3, c'est-à-dire lors de l'étude des comportements d'anticipation (chapitre 4) ainsi que celle des caractéristiques attentionnelles (chapitre 5). Les protocoles plus détaillés propres à chacune des études seront développés dans les chapitres correspondants.

Par ailleurs, l'évaluation de l'état de bien-être des individus s'est dressée comme toile de fond de ce travail de thèse, utilisée pour chacune des thématiques abordées. Nous commencerons alors avant tout par une description détaillée de la méthodologie utilisée pour cette évaluation de l'état chronique des chevaux.

2.2.1 Evaluation de l'état de bien-être/mal-être

L'état de bien-être / mal-être d'un individu pouvant se traduire par des modifications à différents niveaux de l'organisme (*i.e.* sanitaires, physiologique, posturaux et comportementaux), nous avons opté pour une approche multidimensionnelle basée sur des indicateurs associés à ces différents niveaux afin d'obtenir une évaluation fiable de cet état chronique (Tableau 3). En effet, les résultats obtenus au cours des différentes thèses déjà menées sur le bien-être du cheval (Thèses de C. Fureix, 2010 et de C. Lesimple, 2012) ont permis d'ajuster et d'affiner la méthodologie appliquée. Par ailleurs, le calcul d'un score composite total de stress chronique a été réalisé sur la base de certains indicateurs comportementaux (comportements répétés anormaux et comportements agressifs envers l'homme) et posturaux (position des oreilles en alimentation et orientation du cheval vers un

mur plein du box) afin de disposer d'une évaluation plus globale de l'état chronique des individus.

- Mesures sanitaires

Dans le but de pouvoir réaliser nous même une évaluation objective de l'état sanitaire des chevaux, un score de condition corporelle (BCS) a été mesuré selon l'échelle de mesure créée par Arnaud et al. (1997). Une évaluation de la masse de graisse présente à cinq endroits spécifiques du corps (bord supérieur de l'encolure, garrot, arrière de l'épaule, côtes, attache de la queue, Fig.6) a d'abord été réalisée par palpation manuelle. De plus, une évaluation visuelle de sept sites anatomiques (bord supérieur de l'encolure, garrot, arrière de l'épaule, ligne du dos, côtes, croupe, attache de la queue) a été conduite. Une note de 0 à 5 a ainsi été attribuée pour chacun des sites corporels évalués selon le barème de notation décrit (Tableau 2). Ainsi un score BCS a été attribué pour chacun des individus, résultant de la moyenne des scores obtenus pour chaque site anatomique. Ce score pouvait aller de 0 (émacié) à 5 (obèse), en passant par un optimum (entre 2.5 et 3.5 selon la race).

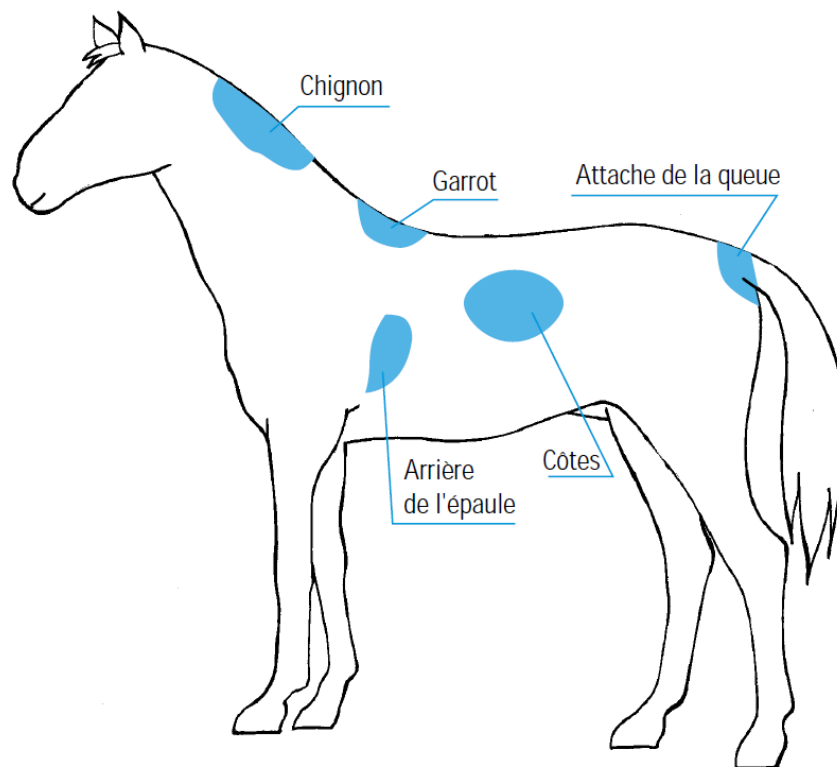


Figure 6 : D'après Arnaud et al. (1997), appréciation de l'état corporel : zones de maniements

Tableau 2 : D'après Arnaud et al. (1997), grille de notation du score de condition corporelle.

Site	Encolure	Garrot	Arrière épaule	Côtes	Ligne du dos	Croupe	Attache de la queue
Note							
0	Chignon inexistant	Très saillant	Forte dépression, épaule saillante et très sèche	Très fort creux intercostaux	Apophyses épineuses très apparentes	Très émaciée	Les vertèbres ressortent ; ligaments sacro-tubéraux bien dégagés
1	Chignon à peine apparent	Saillant, haut des omoplates visible	En creux	Côtes très apparentes, peau collée	Apophyses marquées	Contours concaves	Vertèbres et ligaments sacro-tubéraux légèrement saillants
2	Chignon visible, léger sillon à sa base	Marqué et sec	Légerement concave, présence d'un mince dépôt adipeux	Se devinent sous une peau souple	Apophyses épineuses peu couvertes mais à peine individualisables	Pointes des fesses et des hanches discernables	Bien détachée, vertèbres et ligaments sacro-tubéraux à peine visibles
3	Chignon bien dessiné	Ressort légèrement	Devient plat, dépôt adipeux bien délimité	à peine palpables	Apophyses épineuses non individualisables, un léger dépôt adipeux les entoube	Peu arrondie contour convexe	Relativement dégagée, un léger dépôt adipeux efface les reliefs des vertèbres et des ligaments
4	Chignon relativement épais, préhensible à pleine main	Noyé	Légerement convexe, dépôt adipeux épais et mou	Impalpables sous le dépôt adipeux	Apophyses épineuses recouvertes d'un dépôt adipeux faisant une «barre horizontale»	Bien arrondie, pointes des fesses et des hanches noyées	Se détache peu, dépôt adipeux épais et mou
5	Chignon arrondi et noyé dans la masse de l'encolure, saisi d'une main largement ouverte	Noyé dans une masse graisseuse arrondie	Nettement bombé, importante masse de gras qui tremble au palper	Recouvertes d'un «épais matelas» roulant sous la main	Apophyses épineuses noyées dans le gras recouvrant les côtes	Rebondie, un «sillon» médian peut apparaître («croupe double»)	Massive, noyée dans un dépôt de tissu gras formant un rond ferme («coussin»)

Les problèmes de dos sont par ailleurs très fréquents chez les chevaux de centre équestre (e.g. Lesimple et al. 2016a) et constituent une source de mal-être majeure. Si peu d’indices visibles in situ de ce problème existent, il a été montré que la forme d’encolure pouvait refléter l’état de la colonne vertébrale (Fureix et al. 2011b; Lesimple et al. 2012a). Sur la base de mesures d’angles entre la ligne de dos, l’encolure, et la tête du cheval (Fig.7), Lesimple et al. (2012a) ont mis démontré qu’une encolure de forme creuse ou plate pouvait indiquer des tensions musculaires dans différentes parties de la colonne vertébrale, alors qu’une encolure ronde était plutôt synonyme d’un dos sain. Ainsi la forme d’encolure des individus de nos études a été classée selon les deux catégories suivantes : creuse/plate ou arrondie (Fig.8).



Figure 7 : D’après Lesimple et al. (2012a), représentation des angles de la mesure de la forme d’encolure. α représente l’élévation de l’encolure, β représente la courbe de l’encolure et γ (angle $\delta + \sigma$) représente l’angle M3-M5 (angle tête-encolure).



Figure 8 : D'après Lesimple et al. (2012a), exemples d'un cheval à l'encolure ronde (à gauche) ou creuse (à droite).

- Indicateurs posturaux

- Position des oreilles en alimentation

Nous avons pu voir en introduction que la position des oreilles relevée dans un contexte habituel et en dehors de toute perturbation (*e.g.* phase d'alimentation) pouvait être considérée comme un reflet fiable de l'état chronique des chevaux (Lesimple et al. 2016b). Ainsi la position des oreilles en alimentation a été relevée au box, concernant les chevaux de centre équestre, et au pré pour tous les individus. Les quatre positions suivantes ont été relevées en accord avec de précédentes études (Reefmann et al. 2009; Lesimple et al. 2016b): en avant (pavillons orientés vers l'avant, extrémité des oreilles positionnée en avant de la perpendiculaire à l'axe tête-croupe), en arrière (pavillons orientés vers l'encolure, extrémité des oreilles positionnée en

arrière de la perpendiculaire à l'axe tête-croupe), sur le côté (pavillons orientés de 90° de la position axiale (*i.e.* oreilles perpendiculaires à l'axe tête-croupe), perpendiculaires à la tête) et asymétriques (l'oreille gauche et l'oreille droite sont orientées différemment) (Fig.9).



Figure 9 : Positions des oreilles, de gauche à droite : en arrière, en avant, asymétriques, sur le côté.

-Orientation dans le box

Le « retrait sensoriel » traduit par une orientation vers un mur plein du box, associé à une absence de réponse envers les signaux de l'environnement, est souvent exprimé chez les chevaux « dépressifs » (Fureix et al. 2012b) mais aussi chez des chevaux souffrant de problèmes de santé comme une anémie par exemple (Hausberger et al. 2016). Le pourcentage de temps passé par les chevaux de centre équestre dans cette position (hors temps d'alimentation) a donc été calculé par cheval. Pour cela nous avons relevé l'orientation des sujets dans leur box individuel, en dehors de l'alimentation. Les orientations suivantes ont été distinguées : vers un mur plein, vers la porte, vers le couloir.

Pour ces deux paramètres posturaux, l'échantillonnage a été réalisé selon la méthode du pointage (scan sampling) (Altmann 1974), à raison d'un scan toutes les deux minutes. Deux sessions de 30 minutes par contexte (box et pré) et par individu ont été réalisées sur une journée,

et cette opération a été répétée à nouveau le jour suivant, permettant d'obtenir 62 scans par contexte pour les oreilles ainsi que pour les orientations dans le box.

- Indicateurs comportementaux

-Comportements répétés anormaux et stéréotypies

L'expression de comportements stéréotypiques est un témoin récurrent d'un état de mal-être chez des individus vivant dans des conditions restreintes. On distingue les comportements anormaux répétés, séquences comportementales peu (ou pas) décrites et reconnues (Mills 2005), des stéréotypies qui sont des séquences comportementales connues du milieu équin (*e.g.* tic à l'ours, tic à l'appui). Comme nous l'avons déjà décrit précédemment, ces comportements ont été associés à des restrictions de type alimentaire, sociales et spatiales ou encore à un travail intensif ou inadapté (*e.g.* McGreevy et al. 1995; Cooper et al. 2000; Wickens 2009; Hausberger et al. 2009). Ainsi, nous avons mesuré le nombre de ces comportements exprimés par cheval au cours de 6 sessions de 10 minutes d'observations en toute occurrence (60 minutes au total par individu) (Altmann 1974). Les observations ont été réalisées dans les écuries lors de périodes calmes (en dehors des heures de cours et des perturbations liées à des procédures de routine dans les locaux), au cours de trois moments différents de la journée (2 sessions d'observation par phases) : le matin entre 9h et 11h ; l'après-midi entre 14h et 17h ; et enfin dans les 30 minutes précédant les repas de concentrés (période favorable à l'expression des comportements anormaux ; Cooper et al. 2000; Fureix et al. 2011a). L'expérimentatrice était placée au milieu du couloir de telle manière à pouvoir observer six chevaux en même temps. En effet, généralement les chevaux expriment des comportements stéréotypiques avec la tête au niveau de la porte du box. Les comportements stéréotypiques ainsi que les comportements répétés anormaux ont été identifiés selon les descriptions fournies par Lesimple et Hausberger (2014) et Mills (2005). Pour qu'un comportement identifié soit considéré comme une stéréotypie ou

comme un comportement répétitif anormal, il faut que ce dernier soit répété au moins trois fois successivement et ceci doit être observé au moins 5 fois, indépendamment de la période d'observation.

-Réactions envers l'homme

L'agressivité d'un cheval envers l'homme peut témoigner d'un état de mal-être de l'animal, dû à des douleurs chroniques au niveau du dos par exemple (Fureix et al. 2010b), ou encore dû à un manque de contacts sociaux avec des congénères et un espace de vie insuffisant (Rivera et al. 2002). Différents tests de réaction à l'homme ont été développés dans la littérature (pour une revue : Waiblinger et al. 2006; Hausberger et al. 2008). Parmi ces derniers nous avons choisi d'en réaliser trois afin de mesurer l'agressivité des chevaux envers un homme non familier. Ces tests suivants ont été menés par une même expérimentatrice en box individuel pour les chevaux de centre équestre et au pré pour les chevaux de la population semi naturaliste. Les tests ont été conduits dans l'ordre suivant :

- *Le test de présence passive*, est très couramment utilisé dans la littérature (e.g. Visser et al. 2001; Seaman et al. 2002; Henry et al. 2005; Fureix et al. 2009, 2010b, Sankey et al. 2010b, c, a). Lors de ce test, l'expérimentatrice entrait dans le box, restait immobile pendant 5min, dos à la porte, les bras le long du corps en regardant le sol, sans chercher à interagir avec les animaux, le cheval étant donc libre d'interagir ou non avec lui.
- *Le test d'approche-contact*, est également utilisé chez de nombreuses espèces, mais les angles d'approche et les zones approchées, lorsqu'elles sont spécifiées, varient fortement entre les études (encolure : Søndergaard et Halekoh 2003b; épaule : Fureix et al. 2009, 2010b; tête : Pritchard et al. 2005). Le mode d'approche a été ici standardisé : l'expérimentatrice entrait donc dans le box, s'immobilisait à 1.5m de l'animal jusqu'à ce qu'il recommence à s'alimenter, puis s'approchait de l'épaule, les bras le long du corps, à un rythme de 1 pas par seconde, jusqu'à toucher l'épaule du cheval avec la

main, lorsque le cheval permettait le contact. Si le cheval refusait le contact, et menaçait l'expérimentatrice ou s'éloignait, celle-ci se replaçait à 1.5m du cheval et un nouvel essai débutait. Le test prenait fin lorsque l'expérimentatrice réussissait à caresser l'épaule du cheval pendant 2s, ou au bout de 3 essais infructueux. Le choix de la zone d'approche a été fait sur la base d'une étude montrant que pour des chevaux entraînés, cette zone était moins à même d'induire des comportements de fuite ou de retrait (Sankey et al. 2011). Les deux côtés de chaque cheval ont été testés de façon aléatoire (*i.e.* test réalisé deux fois par cheval dans un intervalle de 2h).

- *Le test d'approche soudaine* (Hausberger et Muller 2002; Fureix et al. 2009, 2010; Rochais et al. 2018a) consiste en une apparition brusque de l'expérimentateur devant la porte du box du cheval. Dans un premier temps, l'expérimentatrice marchait lentement dans le couloir des écuries, puis apparaissait brusquement à la porte du box lorsque le cheval avait la tête en position basse (*e.g.* en alimentation). A chaque fois, la toute première réaction de l'animal en termes de mimiques faciales (position d'oreilles) et de réaction motrice (approche ou éloignement était prise en compte, avec la notation proposée par Hausberger & Müller (2002):

* Score A : le cheval s'approche, les oreilles orientées vers l'avant

* Score B : Le cheval regarde l'homme les oreilles en avant mais ne bouge pas

* Score C : le cheval ne modifie pas son comportement (ne regarde pas l'homme et ne bouge pas les oreilles, il reste donc indifférent).

* Score D : le cheval regarde l'homme les oreilles en arrière, mais ne se déplace pas

* Score E : le cheval s'approche de l'homme avec les oreilles en arrière

Cette notation prend donc en compte différentes attitudes du cheval envers l'homme, passant d'une attitude très positive (A) à une attitude très agressive (E), en passant par l'indifférence (C).

Au cours de ces trois tests, tout comportement agonistique (oreilles couchées en arrière, menace, tentative de morsure) dirigé vers l'expérimentateur a été relevé et les occurrences retenues sur les trois tests ont été additionnées.

Tableau 3 : Récapitulatif des mesures réalisées lors de l'évaluation de l'état de bien-être des individus.

Indicateurs	Mesure	Description
Sanitaires	Score de condition corporelle	Score allant de 0 à 5 basé sur évaluation par palpation manuelle de la masse de graisse présente à cinq endroits spécifiques du corps (bord supérieur de l'encolure, garrot, arrière de l'épaule, côtes, attache de la queue) et sur évaluation visuelle de sept sites anatomiques (bord supérieur de l'encolure, garrot, arrière de l'épaule, ligne du dos, côtes, croupe, attache de la queue). 0 : émacié; 1 : très maigre; 1,5 : maigre; 2 : insuffisant; 2,5<BCS<3,5 : optimum selon le type d'animaux; 4 : gras; 4,5 : très gras; 5 : obèse.
	Forme d'encolure	Encolure creuse/plate : l'encolure forme un angle concave ou plat par rapport à une ligne imaginaire tracée entre le garrot et la base des oreilles; Encolure arrondie : l'encolure forme un angle convexe par rapport à une ligne imaginaire tracée entre le garrot et la base des oreilles.
Posturaux	Position des oreilles en alimentation	Pourcentage de temps passé les oreilles en arrière en alimentation, mesuré en scan sampling toutes les 2 minutes pendant 60 minutes (2 sessions de 30 minutes).
	Orientation vers un mur du box	Pourcentage de temps passé vers un mur plein du box (hors phase d'alimentation), mesuré en scan sampling toutes les 2 minutes pendant 60 minutes (2 sessions de 30 minutes).
Comportementaux	Comportements anormaux répétés et stéréotypés	Nombre de comportements anormaux répétés et/ou stéréotypés mesurés en toute occurrence durant 60 minutes (6 sessions de 10 minutes). Un comportement anormal doit être répété au moins 3 fois successivement et observé au moins 5 fois pour être considéré.
	Comportements agressifs envers l'homme	Nombre de comportements agressifs (oreilles plaquées vers l'arrière, menace, tentative de morsure) émis lors des 3 tests de réaction à l'homme : présence passive, approche contact, approche soudaine.

Afin de disposer d'une évaluation plus globale de l'état chronique des individus, un score composite de stress chronique (TCSS), adapté de Hausberger et al. (2012) et Henry et al. (2017), a été calculé pour chaque individu sur la base des données obtenues pour les différentes mesures précédemment décrites. Ainsi, chaque cheval a été classé selon 1) le pourcentage de temps passé les oreilles en arrière en alimentation, 2) le pourcentage de temps passé orienté vers un mur plein du box, 3) le nombre de comportements stéréotypiques et anormaux répétés exprimés durant les 60 minutes d'observation, ainsi que 4) le nombre de réponses agressives dirigées vers l'expérimentateur au cours des tests de relation à l'homme. Pour toutes ces variables, plus la valeur obtenue était grande, plus l'état de bien-être était altéré, et le plus le rang attribué à l'individu était haut. Les rangs obtenus pour chaque paramètre ont été additionnés pour chaque cheval. Ainsi, plus l'état de bien-être était altéré, plus le score total de stress chronique (TCSS) obtenu était important. A titre d'exemple, un cheval ayant obtenu le 5^{ème} plus petit pourcentage de scans passé les oreilles en arrière, la 8^{ème} position concernant le pourcentage de scans orientés vers un mur plein du box, ayant exprimé le moins de comportements stéréotypiques et ayant été classé deuxième cheval le moins agressif envers l'homme, aura un TCSS de 16. Ce score est supérieur, et donc reflète un état de bien-être plus altéré qu'un cheval qui aurait été classé premier pour tous les paramètres.

Cette évaluation de l'état de bien-être/mal-être a été réalisée sur l'ensemble des chevaux de la population de loisir ainsi que sur les individus des deux centres équestres CE1 et CE2. Elle nous a permis d'obtenir un gradient d'altération de l'état de bien-être des individus à partir duquel nous avons pu ensuite établir des corrélations avec nos différentes mesures, dans le but de mettre en évidence des indicateurs d'émotions positives.

2.2.2 Des méthodologies innovantes

Notre objectif principal étant de mettre en avant des marqueurs d'émotions positives chez le cheval, nous avons exploré différentes pistes proposées par la littérature parmi lesquelles les signaux acoustiques non-vocaux (chapitre 3), les comportements observés en situation d'anticipation alimentaire (chapitre 4) et pour finir l'attention (chapitre 5). Afin d'approfondir au mieux ce dernier élément plus particulièrement, nous avons eu recours à des méthodologies et technologies innovantes.

-Mesure de l'activité cérébrale d'un cheval attentif en éveil

La mesure de l'activité cérébrale semble particulièrement intéressante non seulement pour déterminer l'état attentionnel d'un individu, mais aussi pour tenter de définir son état émotionnel. En effet, chez l'Homme l'électroencéphalographie (EEG) a permis de caractériser les différents niveaux d'éveil allant jusqu'au sommeil (Rodenbeck et al. 2006), et depuis quelques dizaines d'année son utilisation est apparue extrêmement prometteuse dans la classification des émotions humaines (*e.g.* Ko et al. 2009; Nie et al. 2011). Effectivement, cette technique a le potentiel de pouvoir mesurer à la fois la valence, via la latéralité hémisphérique, et également l'intensité, via le type d'onde produite, d'une réponse comportementale.

Depuis peu cette technique est également utilisée chez l'animal, et notamment chez les équidés, à des fins vétérinaires, comme pour vérifier l'état d'éveil d'un individu sous anesthésie par exemple (Grint et al. 2015), ou encore étudier des maladies cérébrales telle que l'épilepsie (Lacombe et al. 2012; Wijnberg et al. 2013). Cependant l'application de cet outil chez l'animal présente de nombreuses contraintes étant donné qu'il est quasiment impossible d'éviter les mouvements chez un animal éveillé, pouvant alors hautement perturber les signaux enregistrés. Pour cette raison, les mesures EEG chez l'animal ont été réalisées de manière invasive à l'aide d'électrodes implantées en profondeur (*e.g.* Dallaire et Rucklebusch 1974; Boeijinga et Lopes

da Silva 1988), pouvant alors laisser un souvenir négatif en mémoire ; ou de manière moins invasive où l'animal est gardé immobile, les électrodes collés sur la tête, et où un mouvement imprévu peut avoir des conséquences négatives (Williams et al. 2008). Par ailleurs, ceci implique que les poils de l'animal doivent être rasés, ce qui peut également être perçu négativement chez un cheval non-habitué.

Le développement très récent d'un casque EEG (brevet n°R23701WO, Fig.10) permettant de mesurer l'activité cérébrale d'un cheval éveillé et libre de ses mouvements (Cousillas et al. 2017; Rochais et al. 2018b) apparaît être alors un outil précieux dans l'avancée des recherches concernant l'état attentionnel et émotionnel chez le cheval. Effectivement les études menées par Cousillas (2017) et Rochais (2018b) ont mises en évidence un lien entre état attentionnel et type d'onde produite, en interaction avec une latéralité hémisphérique. Par ailleurs, il semblerait que les profils observés soient relativement stables sur deux jours consécutifs d'enregistrement.

Ainsi, dans le cadre du troisième axe de cette thèse, l'utilisation de ce casque s'est avérée très pertinente. En effet, notre but étant d'étudier les processus attentionnels en jeu lors du traitement d'un stimulus selon sa valence, 13 chevaux de la population de loisir ont été équipés du casque lors d'un test cognitif de biais de jugement. L'activité cérébrale des individus a ainsi été enregistrée tout au long du test cognitif, comprenant le traitement de stimuli positifs, négatifs et ambigus (Fig.10). Les signaux EEG étaient enregistrés à la fois directement sur une carte SD placée dans un boîtier fixé sur le casque, mais aussi sur un ordinateur placé à l'extérieur de l'aire de test via un système d'enregistrement télémétrique connecté à un transmetteur Bluetooth. Après un traitement des artefacts, dus principalement aux mouvements des chevaux lors du test, l'analyse des signaux enregistrés a été réalisée à l'aide d'un logiciel de traitement créé spécifiquement pour le casque utilisé. Nous avons ainsi pu étudier l'évolution des différents types d'ondes produits par les hémisphères droit et gauche selon la valence du

stimulus présenté à l'animal. Par ailleurs, l'ensemble du test étant filmé à l'aide d'une caméra grand angle, nous avons pu corrélérer les comportements exprimés aux signaux EEG enregistrés.



Figure 10 : (A) Casque EEG utilisé, (B) Test du biais cognitif de jugement et enregistrement simultané de l'activité cérébrale.

-Mesure des caractéristiques attentionnelles en absence d'un expérimentateur

Un test d'attention visuelle a été récemment développé par notre équipe dans le cadre de la thèse de Céline Rochais visant à mettre en évidence les caractéristiques attentionnelles individuelles des chevaux ainsi que leurs facteurs de modulation. Ce test, conçu pour une application facile sur le terrain, est basé sur la diffusion d'un stimulus lumineux non familier, en mouvement, de couleur verte issue d'un pointeur laser, par un expérimentateur présent dans le box du cheval (Rochais et al. 2017b). En effet, les chevaux ont une capacité élevée à détecter les mouvements et à discriminer la couleur verte (Blackmore et al. 2008). Si ce test apparaît très efficace dans la mesure des caractéristiques attentionnelles individuelles des chevaux, en revanche, il n'est pas exclu que la présence d'un expérimentateur dans le box au moment du test ai influencé les réponses des sujets. En effet, l'effet de la présence même passive d'un humain lors d'une tâche cognitive a déjà été décrit chez plusieurs espèces dont le cheval (chiens

: Jakovcevic et al. 2012; chevaux : Lesimple et al. 2012b; chèvres : Nawroth et al. 2015). Par exemple, des chevaux se trouvant en échec face à une tâche cognitive (*e.g.* ouvrir une boîte) montraient un intérêt plus important vers l'humain présent à côté d'eux (Lesimple et al. 2012b).

Ainsi, dans le but de se soustraire d'un potentiel effet d'audience dû à la présence d'un humain dans le box lors du test, nous avons développé au cours de cette thèse un nouveau test d'attention visuelle permettant de mesurer exactement les mêmes paramètres attentionnels que lors du test classique, mais sans expérimentateur présent à l'intérieur du box. Cette fois, le stimulus (identique à celui utilisé pour le test classique, *i.e.* point vert en mouvement) était diffusé sur un écran noir fixé à la porte du box (Fig.11). L'écran était relié à un ordinateur à partir duquel l'expérimentatrice pouvait déclencher le stimulus, placé hors de la vue de l'individu testé. Le mouvement, la vitesse de déplacement ainsi que la durée totale de diffusion du stimulus était strictement identiques à ceux du test classique. Deux caméras, l'une placée à l'intérieur et l'autre en face du box, permettaient de mesurer toutes les séquences de regards et leur durée associée.

Ce test a été réalisé sur un échantillon de 9 individus de la population d'un des centres équestres inclus dans ce travail de thèse.



Figure 11 : Photo extraite du test d'attention visuelle avec écran, en absence d'un expérimentateur.

-Mesure automatisée de l'activité motrice

Le second axe de cette thèse visait à étudier en détails les comportements d'anticipation des chevaux à la venue d'un évènement positif (*i.e.* nourrissage dans le cas de notre étude). Afin de pouvoir standardiser les différents paramètres en jeu (*e.g.* heure de distribution, ordre de distribution), une expérimentation a été menée à la station expérimentale de Chamberet sur une période totale de 10 semaines. Comme nous l'avons développé en introduction, les comportements d'anticipation se caractérisent principalement par une augmentation de l'activité locomotrice des individus (*e.g.* visons : Vinke et al. 2004; renards argentés : Moe et al. 2006 ; chevaux : Peters et al. 2012). Ainsi, dans le but d'évaluer cette activité chez les chevaux observés lors de notre expérimentation de manière simple et standardisée, une collaboration a été créée avec Anne Aupiais de l'Institut de l'élevage (IDELE) afin d'utiliser

des accéléromètres dotés de capteurs triaxiaux 4Hz (IceQube®) (Fig.12). Leur utilisation a déjà été validée chez plusieurs espèces domestiques dans le cadre d'études mesurant le temps passé couché par les animaux (Shepard et al. 2008; Robert et al. 2009; de Mol et al. 2013; Finney et al. 2018), dont le cheval (DuBois et al. 2015), où une corrélation claire entre les comportements observés en direct ou filmés et les mesures recueillies par les accéléromètres a pu être démontrée.

Cet outil permet de pouvoir mesurer en continu à la fois les macros (déplacement d'un membre=pas) et micros mouvements (changement d'appui) des chevaux dans leur box, et ce sans l'aide de caméras ni d'observations en direct, permettant alors d'économiser un temps considérable. Un accéléromètre est capable de mesurer les mouvements verticaux dirigés vers le sol (axe-x) ainsi que les mouvements effectués à l'horizontale en direction caudale (axes-y) et médiane (axe-z). Cela résulte en un indice de mouvement, d'unité arbitraire, basé en grande partie sur le nombre de pas effectués et reflétant l'activité locomotrice exercée par l'animal. Les mesures réalisées sont amassées par tranche de 15 min.

Notre expérimentation consistait à mettre en place une routine alimentaire chez des chevaux vivant en grand partie au pré et donc peu habitués à un régime alimentaire rationné et prédictible dans le temps. Aussi, dès la deuxième semaine de routine alimentaire, des accéléromètres ont été posés sur le membre antérieur gauche de chaque jument dès leur entrée dans le box, après avoir été activés en amont par l'expérimentatrice. Des enregistrements en continu nous ont alors permis d'évaluer l'activité locomotrice quotidienne des chevaux par tranche de 15 min tout au long des différentes phases expérimentales, de l'entrée à la sortie du box. En effet, les capteurs étaient retirés et désactivés chaque soir avant la sortie des juments. Les données ainsi récoltées étaient ensuite transférées vers un ordinateur à l'aide d'un boîtier lecteur.



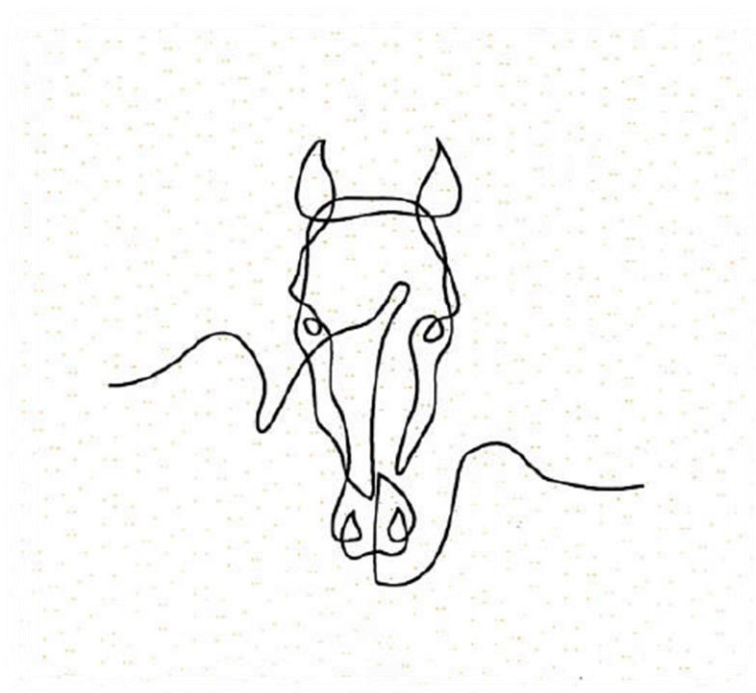
Figure 12 : Accéléromètre utilisé lors de l'expérimentation.

2.2.5 Considérations statistiques

L'approche de terrain utilisée ici en testant des animaux en situation réelle (centre équestre, population « naturaliste ») était majeure pour notre problématique, mais présente des inconvénients d'un point de vue statistique. Nous avons vu qu'il était impossible de contrôler parfaitement les effectifs des groupes, tant sur les variables indépendantes invoquées (*e.g.* sexe) que sur les données obtenues lors des observations (*e.g.* le fait d'être agressifs envers l'homme ou non). Une telle approche ne permet donc pas (en comparaison avec une approche purement expérimentale) de planifier a priori les effectifs des groupes considérés pour les analyses. De plus, certains groupes étaient constitués d'un faible nombre d'individus. Enfin, la majorité des données obtenues n'était pas répartie suivant une distribution normale. L'ensemble de ces caractéristiques nous a donc amené à réaliser des tests statistiques non paramétriques (Siegel et Castellan 1988). Les analyses statistiques ont été réalisées sur les logiciels R© et Statistica©.

Chapitre 3

Les comportements d’anticipation



3. Les comportements d’anticipation

INTRODUCTION

Nous avons pu voir en introduction que, parmi les différentes propositions avancées dans la littérature concernant les indicateurs comportementaux d’émotions positives, les comportements exprimés lors de l’anticipation d’un évènement positif (souvent l’accès à de la nourriture) s’imposent particulièrement. En effet ces derniers sont notamment couramment associés à un état hautement motivé de l’individu (Boissy et al., 2007b). Caractérisés comme étant le reflet d’un état émotionnel positif de forte intensité, les comportements d’anticipation seraient par ailleurs informatifs de l’état chronique des individus. En effet, l’intensité des comportements exprimés lors de cette phase permettrait de définir la sensibilité des individus à une récompense (Spruijt et al., 2001). Cependant, chez de nombreuses espèces dont le cheval, les comportements observés dans ce cadre s’avèrent particulièrement ambigus (Peters et al., 2012). Outre le questionnement sur la validation des comportements d’anticipation comme indicateurs d’émotions positives, se pose aussi de fait la question de l’importance et des conséquences de la gestion humaine, généralement associée à une forte prédictibilité de l’environnement (*e.g.* heures de nourrissage) (*e.g.* Lima et al., 2017; Rose et al., 2017; Watters, 2014).

Que ce soit dans la nature ou en captivité, les individus peuvent être soumis à des évènements prédictibles tels que les saisons, la disponibilité en lumière ou en ressources alimentaires. En conditions domestiques, les ressources étant moins distribuées dans le temps et l’espace, l’environnement des animaux sera alors d’autant plus prédictible (Krebs et al., 2017). Effectivement, tous les besoins élémentaires (*e.g.* accès à l’eau, à la nourriture, à un abri, aux partenaires sexuels) sont programmés et dépendants de l’homme, et généralement se produisent de façon répétée et identique de jour en jour. Les animaux vont ainsi montrer des

capacités à former des associations entre le temps ou un certain signal, et l’apparition de ces évènements (Mistlberger, 2011). Ce mécanisme d’anticipation leur permettra alors de fournir une réponse comportementale adaptée à leur environnement (Daan, 1981; Williams et al., 2014). En conditions naturelles, dans la plupart des cas il n’y a pas de raison a priori de penser qu’un évènement donné sera périodique. Mais lorsque les évènements se reproduisent de façon régulière, les animaux, qu’ils vivent en conditions naturelles ou domestiques, sont capables de comprendre la rythmicité, voire même d’évaluer, de façon consciente ou non, la récurrence de ces évènements (Antle et Silver, 2009).

D’après Rosen (1985), les animaux sont dotés d’un « système anticipatoire » leur permettant de s’adapter à une situation en fonction des prédictions établies par rapport aux situations précédentes. Ce modèle inclut à la fois des mécanismes cognitifs et non-cognitifs. Sur le plan cognitif, les animaux vont être capables de former une association entre un stimulus spécifique et l’évènement qui s’en suit. Cet apprentissage associatif est aussi connu sous le nom de conditionnement Pavlovien classique (Pavlov, 1927). Ainsi, les chevaux vont par exemple apprendre à associer un signal extérieur spécifique (*e.g.* bruit des granulés versés dans la brouette par le soigneur) à une issue probable (*e.g.* distribution de nourriture dans leur mangeoire). Cette situation se répétant dans le temps, une certaine anticipation des évènements pourra alors se développer graduellement, au fur et à mesure des associations apprises entre l’apparition d’un évènement et sa dernière occurrence. Puisque les intervalles séparant deux évènements routiniers (*e.g.* sortir au paddock) sont réguliers, les animaux vont être capables de les mémoriser et les regrouper dans une catégorie « intervalles de temps ». Alors, le temps écoulé entre la fin d’un évènement et le début de ce même évènement répété ultérieurement sera stocké en mémoire de travail. Plus tard, lorsque ce même évènement est rencontré, le temps écoulé est comparé à l’intervalle de temps stocké en mémoire. Selon la comparaison de cette durée au seuil construit en mémoire, des comportements d’anticipation pourront alors apparaître

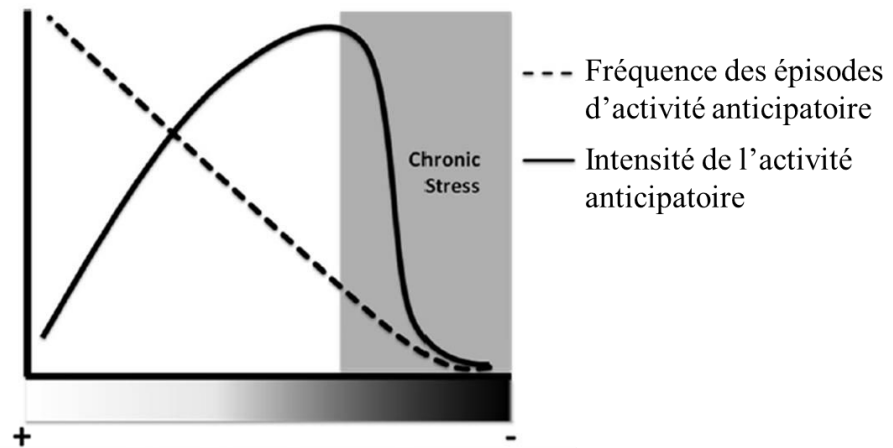
dans le cas où cette durée est « homogène » (Balsam et al., 2009). D’autres mécanismes, non-cognitifs cette fois, peuvent aussi être impliqués dans l’anticipation de nourriture. Le rythme circadien endogène, coordonné par le noyau supra-chiasmatique, pourrait être à l’origine des comportements d’anticipation (Mistlberger et al., 1996). Cependant, dans le cas où la distribution de nourriture se cantonne à un moment précis de la journée, il semblerait que l’activité anticipatoire ne dépende pas de l’horloge circadienne interne mais plutôt d’autres oscillateurs circadiens (*e.g.* chez le rat : Storch et Weitz, 2009). L’anticipation d’un évènement constitue ainsi un système complexe impliquant à la fois des signaux externes et internes, faisant appel aux mécanismes d’apprentissage et de mémoire, ainsi qu’à des processus homéostatiques (Balsam et al., 2009). En revanche, la part d’implication de chacune de ces composantes dans le processus d’anticipation chez le cheval reste encore méconnue à ce jour.

Les animaux sont ainsi capables d’anticiper la venue d’évènements positifs ou négatifs, impliquant respectivement les circuits neuronaux de la récompense ou de la punition et générant alors différents états émotionnels. Ces derniers apparaissent en effet en réponse à des stimuli ou situations ayant une valeur de récompense ou de punition pour l’individu, résultant en un état émotionnel respectivement positif ou négatif (Mendl et al., 2010). De ce fait, la notion de « récompense » se retrouve intrinsèquement liée aux études cherchant à mettre en évidence des indicateurs d’émotions positives chez l’animal, les chercheurs partant du principe qu’ « étudier ce que les animaux veulent sera indicatif de ce que les animaux aiment » (Yeates et Main, 2008). Une récompense présente par définition un avantage pour l’individu, entraînant par conséquent l’activation du système motivationnel et l’apparition de comportements motivés. Ces derniers sont divisés en deux catégories : d’un côté, les comportements se produisant au cours de la phase appétitive, et de l’autre ceux apparaissant lors de la phase consommatoire de la récompense. Les comportements d’anticipation, définis comme une réponse suscitée par un stimulus récompensant dont la survenue est éminente (Spruijt et al., 2001), sont par définition

caractéristiques de la phase appétitive. De ce fait, ils sont considérés par de nombreux auteurs comme étant le reflet d’un état émotionnel positif (Boissy et al., 2007b; Spruijt et al., 2001) et le contexte d’anticipation est alors utilisé comme une situation de référence, source d’émotions positives (*e.g.* Briefer et al., 2015b; Leliveld et al., 2016; Maigrot et al., 2017). De plus, certains auteurs stipulent que, chez des individus conditionnés, le système des opioïdes normalement associé à la consommation d’une récompense (Burgdorf et Panksepp, 2006), pourrait s’activer avant même l’acquisition de cette dernière rendant alors les comportements appétitifs eux-mêmes récompensant pour l’animal (Watters, 2014). Liés à l’activité dopaminergique (Berridge, 2007), les comportements, exprimés lors de la période d’anticipation d’un évènement positif pour l’animal, seraient par ailleurs un gage de non-anhédonie (*i.e.* perte de motivation pour un stimulus habituellement perçu comme hautement positif) (van der Harst et al., 2005), un des aspects pouvant être observé chez des individus dépressifs (*e.g.* chevaux : Fureix et al., 2015). Selon certains auteurs, les comportements d’anticipation pourraient ainsi également être un indicateur de l’état de bien-être des individus (Spruijt et al., 2001).

En effet, d’après Spruijt et al. (2001), le niveau d’intensité des comportements d’anticipation observés permettrait de définir la sensibilité des individus à une récompense. L’anticipation serait alors « une expression momentanée d’un état affectif positif offrant un aperçu de l’équilibre général entre les états affectifs positifs et négatifs de la vie récente de l’individu » (Watters, 2014). Si l’on considère que les animaux sont hédonistes, à la recherche de plaisir, on peut supposer que l’accumulation d’expériences négatives puisse renforcer la motivation à vouloir vivre une expérience positive. Plusieurs études conduites chez le rat ont, en effet, montré des comportements d’anticipation de plus forte intensité (*e.g.* augmentation de la locomotion) chez des individus vivants dans des conditions sous optimales (*i.e.* socialement isolés, vivant dans un environnement pauvre) en comparaison à des individus maintenus dans des conditions favorables (*i.e.* contacts sociaux, environnement enrichi) et donc ayant plus de

chances d’être dans un état de bien-être (van der Harst et al., 2003a, 2003b; van der Harst et Spruijt, 2007). Dans un même ordre d’idée, une étude récente a mis en évidence chez le dauphin une augmentation de l’activité anticipatoire avant les sessions d’entraînement chez des individus pessimistes en comparaison aux animaux jugés optimistes. Les auteurs suggèrent alors que les dauphins exprimant un biais de jugement négatif placeraient une valeur plus importante sur la récompense à venir, reflétant probablement un manque récurrent d’autres évènements positifs dans leur environnement (Clegg et Delfour, 2018). Par contre, un déséquilibre trop important entre la survenue d’évènements positifs (rares) et la survenue d’évènements négatifs (majoritaires) peut aboutir à un état de stress chronique et induire, dans certains cas, un état d’anhédonie et par conséquent une absence de comportements appétitifs (Fureix et al., 2015; Walker et Mason, 2011; Willner et al., 1992). Selon certains auteurs, ceci se traduirait par une chute drastique des comportements d’anticipation (partie grisée de la courbe sur Fig.1). Dans le cas inverse, lorsqu’un individu est constamment exposé à des expériences positives, sa motivation d’obtenir une nouvelle récompense serait moins intense (partie gauche de la courbe sur Fig.1). L’intensité des comportements d’anticipation pourraient alors constituer un outil de mesure de l’état chronique des individus (Spruijt et al., 2001; Watters, 2014).



Equilibre entre la fréquence des expériences positives (+) et négatives (-) (bien-être)

Figure 1 : Modèle prédictif du comportement d’anticipation d’après Van der Hart et Spruijt (2007) et modifié par Watters (2014).

Dans les faits, les comportements d’anticipation s’observent essentiellement en conditions domestiques et de captivité, très souvent en période de pré-repas. Étudiés chez de nombreuses espèces, allant des poissons aux oiseaux, en passant par les mammifères, les comportements d’anticipation d’un évènement positif (*e.g.* accès à de la nourriture, à un jouet, augmentation de l’espace, environnement enrichi) se caractérisent majoritairement par une augmentation de l’activité locomotrice (agneaux : Anderson et al., 2015; porcelets : Dudink et al., 2006; visons : Hansen et Jeppesen, 2006; Vinke et al., 2004; pandas roux *Ailurus fulgens* : Krebs et al., 2017; chevaux : Peters et al., 2012; renards argentés : Moe et al., 2006 ; ménés jaunes : Reeb et Lague, 2000 ; rats : van den Bos et al., 2003), excepté chez quelques espèces (dauphins *Tursiops truncatus* : Jensen et al., 2013; gorilles : Krebs et al., 2017; chats : van den Bos et al., 2003). Cette augmentation d’activité se traduit notamment par de nombreuses transitions comportementales et est logiquement associée à une diminution du temps passé au repos (pandas roux : Krebs et al., 2017). Les animaux montrent par ailleurs une augmentation

de leur niveau d’attention (gorilles : Krebs et al., 2017), voire un état de vigilance (agneaux : Anderson et al., 2015 ; dauphins : Jensen et al., 2013; chevaux : Peters et al., 2012) envers la source de la récompense, souvent associée à une orientation prépondérante de l’animal vers cette même source (porcelets : Dudink et al., 2006; ménés jaunes : Reeb et Lague, 2000; renards argentés : Moe et al., 2006). Certains auteurs décrivent également, chez les jeunes individus uniquement, l’apparition de comportements de jeu lors de l’anticipation (dauphins : Clegg et al., 2017; porcelets : Dudink et al., 2006). Si les comportements d’anticipation reflètent indéniablement une augmentation d’intensité, s’exprimant souvent sur le plan physiologique par une augmentation du rythme cardiaque (porcs : Leliveld et al., 2016; chevaux : Peters et al., 2012) et/ou de la fréquence respiratoire (chèvres : Briefer et al., 2015b), une étude a mis en évidence, chez la poule domestique, une augmentation des comportements dits de confort (*e.g.* lissage des plumes, battements des ailes) associée à un état de relaxation et donc par conséquent à un état de plus faible intensité au cours de l’anticipation.

En revanche, la valence associée aux comportements d’anticipation reste ambiguë. Effectivement, la mention récurrente de comportements stéréotypiques (dromadaires : Aubè et al., 2017; visons : Hansen et Jeppesen, 2006; Vinke et al., 2004; renards argentés : Moe et al., 2006; chevaux : Peters et al., 2012; pour une revue : Rose et al., 2017) observés durant l’anticipation d’évènements positifs pose question quant à l’état émotionnel mesuré lors de cette phase. Plus particulièrement chez le cheval, plusieurs auteurs ont déjà montré que l’anticipation alimentaire était un moment privilégié pour l’observation de comportements anormaux répétés et de stéréotypies (*i.e.* mâche à vide, tic à l’appui, tic à l’ours) (Cooper et McGreevy, 2007; Mills, 2005) ainsi qu’une expression accrue de bâillements (Fureix et al., 2011a) considérés chez différentes espèces comme des activités redirigées potentielles (Mason, 1991). La frustration de voir d’autres être nourris pourrait être la source de ces expressions comportementales (Cooper et al., 2005; Fureix et al., 2011a). En effet, l’augmentation des

comportements précités n’a pas été observée si tous les animaux étaient nourris simultanément (Fureix et al., 2011a).

Ces constats soulèvent alors quelques questionnements quant à la fiabilité de considérer les comportements d’anticipation d’un évènement positif comme le reflet réel d’émotions positives. S’ils traduisent la sensibilité des animaux pour la « récompense » prédite, alors peut-être que ces comportements seraient plutôt le reflet d’un « manque » à combler. De plus, le terme de « récompense » faisant référence à un renforcement *immédiat* en conséquence d’une action (Skinner, 1976), on pourrait alors se demander si l’association de cette notion à l’anticipation d’un évènement positif ne serait pas malencontreuse. Effectivement, le temps écoulé entre l’apparition d’un signal annonçant l’arrivée d’un évènement positif et sa survenue effective est, dans la plupart des études conduites à ce sujet, de plusieurs minutes (*e.g.* 4min : Vinke et al., 2004; 10 min: Moe et al., 2006; Peters et al., 2012; van der Harst et al., 2005), alors qu’une récompense est habituellement délivrée à très court terme (*i.e.* de l’ordre de quelques secondes) (Anliker et Mayer, 1956). On pourrait alors supposer que l’état émotionnel des individus évoluerait au cours de la phase d’anticipation, d’une valence certainement positive à la perception du signal vers une valence négative au fur et à mesure du temps écoulé.

Considérant cela, un autre questionnement se pose concernant l’impact des conditions de vie, et donc d’un environnement plus ou moins prédictible, sur le bien-être des individus. Très souvent, la vie domestique implique des restrictions spatiales, sociales, alimentaires, avec en particulier une perte du contrôle des individus sur les évènements (*e.g.* s’alimenter quand ils ont faim). En contrepartie, les soigneurs, pour assurer *a minima* les besoins de l’animal, vont par exemple leur distribuer plusieurs repas à heures fixes au cours de la journée. Par conséquent, les évènements quotidiens (*e.g.* nourrissage) peuvent se reproduire régulièrement chaque jour. Ces conditions spécifiques rendent l’environnement hautement prédictible pour les animaux (Rose et al., 2017; Watters, 2014), dont les chevaux (Cooper et McGreevy, 2007; Nicol, 2005).

La question de l’impact de ces pratiques de gestion sur l’état de bien-être des animaux vivants en captivité est encore aujourd’hui débattue. En effet, certains auteurs proposent que la prédictibilité des évènements permette de réduire à la fois le stress d’une certaine soudaineté (*i.e.* écart entre les attentes des individus et la réalité) ou d’une durée d’attente incertaine (Boissy et al., 2007a) et de promouvoir des comportements positifs (*e.g.* jeu chez les porcelets : Dudink et al., 2006) dont les comportements d’anticipation (van der Harst et al., 2005), favorable au bien-être. D’autres auteurs au contraire démontrent que la création d’un environnement par moment imprédictible favoriserait l’expression de comportements appropriés de l’espèce (*i.e.* exploration alimentaire) (chimpanzés *Pan troglodytes* : Bloomsmith et Lambeth (1995), ours *Helarctos malayanus* : Schneider et al., 2014), et par la même réduirait les comportements anormaux (*e.g.* stéréotypies, grattage intense autodirigé) et de frustration (Rose et al., 2017). En effet, Johannesson et Ladewig (2000) avancent même que la création d’un environnement très prédictible « bloquerait » incontestablement les animaux dans des cycles d’anticipation d’évènements réguliers, alors qu’au sein d’environnements moins prédictibles, ces individus montreraient une plus grande motivation à explorer et rechercher de la nourriture. Dans ce cas, les comportements d’anticipation reflèteraient davantage un manque et une frustration dus à l’inadéquation entre la réalité et les besoins de l’espèce. Ces différents postulats remettent ainsi en cause les pratiques habituelles de gestion, impliquant inévitablement une prédictibilité et donc une attente importante des évènements, et ce particulièrement chez le cheval. En effet nous savons que, chez cette espèce, le besoin d’une alimentation quasi-continue est primordial sur le maintien de son état de bien-être (*e.g.* Bachmann et al., 2003; McGreevy et al., 1995; Nicol et al., 2002; Tinker et al., 1997).

Aujourd’hui, une seule étude s’est focalisée sur la caractérisation des comportements d’anticipation en tant que telle chez le cheval (Peters et al., 2012). Dans cette étude, une augmentation significative de l’activité locomotrice et des transitions comportementales a pu

être observée, reflétant une certaine excitation. Par ailleurs, bien que les auteurs aient mentionné l’expression de comportements stéréotypiques chez certains individus, ces observations ne relevaient, selon eux, pas de la situation d’anticipation en elle-même mais plutôt de l’ontogénie de comportements s’étant développés au moment du sevrage. Pourtant, une autre étude avait déjà évoqué l’apparition importante cooccurrence de comportements stéréotypiques et bâillements au moment de la distribution des repas chez cette espèce, résultant selon les auteurs d’une frustration due à l’attente en elle-même mais aussi liée au fait de voir d’autres congénères être servis avant. En effet, lorsque les chevaux étaient, en revanche, tous servis en même temps grâce à un système automatisé, l’augmentation de ces « activités déplacées » n’a plus été observée (Fureix et al., 2011a).

A travers ce chapitre, nous tenterons de 1) caractériser le déclenchement de l’anticipation (*i.e.* anticipation temporelle ou signalée) ; 2) tester l’impact de la prédictibilité de l’environnement et 3) l’impact du rang de distribution sur les comportements d’anticipation ; et enfin 4) analyser l’impact des caractéristiques individuelles des individus (sexe, âge, race, état de bien-être) sur l’expression des comportements d’anticipation.

Ainsi, nous testerons de manière expérimentale l’implantation d’une routine alimentaire (*i.e.* repas à heures fixes) sur des juments vivant majoritairement au pré et nous évaluerons, via la mesure automatisée de l’activité locomotrice grâce à des accéléromètres, le déclenchement de l’activité anticipatoire. Puis nous analyserons les effets d’une modification de ce schéma quotidien (*i.e.* ordre de distribution ou horaire de nourrissage) sur les comportements d’anticipation mais également l’activité locomotrice globale des juments sur la journée (**article 1**). Ensuite, nous étudierons les comportements d’anticipation chez le cheval à travers l’étude observationnelle d’épisodes quotidiens de distribution de concentrés chez des chevaux de centre équestre. Après avoir décrit les caractéristiques comportementales de cette phase afin de mieux en définir sa valence, nous étudierons plus particulièrement les différents facteurs de

modulation de l’expression de ces comportements, parmi lesquels (i) l’apport de fourrage avant la distribution de concentrés, (ii) le rang de nourrissage, impliquant un temps d’attente plus ou moins important de la récompense, pour les différents chevaux de l’écurie et (iii) l’état de bien-être des individus (**article 2**).

Synthèse de l’article 1

Question

Si l’apparition de comportements d’anticipation a déjà été décrite chez le cheval avant la distribution de repas, il reste à définir si cette anticipation est basée sur un apprentissage associatif ou l’intégration d’intervalles de temps entre deux évènements. Par ailleurs, nous nous sommes interrogés sur l’impact du temps d’attente sur l’activité anticipatoire, pouvant potentiellement être source de frustration. De plus, considérant le débat actuel concernant l’impact de la prédictibilité de l’environnement sur les individus vivant en conditions domestiques ou de captivité, nous nous sommes intéressés aux conséquences de la mise en place d’horaires imprédictibles de nourrissage sur l’activité locomotrice des chevaux.

Méthodes

Dix juments anglo-arabes, vivant la plupart de l’année en prairie, ont été placées en boxes individuels disposés en ligne. Leur activité locomotrice a été ensuite mesurée à l’aide d’accéléromètres triaxiaux lors de trois phases expérimentales. En premier lieu, les juments ont été soumises à une routine alimentaire (*i.e.* horaire et ordre de nourrissage identiques chaque jour, arrivée du soigneur en voiture dans les 3 minutes précédant la distribution) (expérience 1). La seconde phase a consisté à inverser l’ordre de distribution tout en gardant le même horaire de nourrissage (expérience 2). Enfin, au cours de l’expérience 3, les individus ont été soumis à des horaires imprédictibles de nourrissage, cependant l’ordre de distribution initial a été conservé.

Résultats

En phase de routine alimentaire, une augmentation significative de l’activité locomotrice a été observée dans les 15 minutes précédant le nourrissage. L’activité mesurée lors de cette phase d’anticipation était clairement supérieure à l’activité basale des juments au box, mesurée hors nourrissage. De nouveau, un pic clair d’activité a été mesuré dans les 15 minutes précédant le nourrissage lors de l’inversion de l’ordre de distribution. Par ailleurs, celle-ci a engendré une augmentation significative de l’activité locomotrice des cinq juments habituellement servies en premier. Cependant, aucune différence significative n’a été mise en évidence entre l’activité des cinq premières et des cinq dernières juments lors des différentes phases expérimentales. Enfin, face à des horaires de nourrissage imprédictibles, le pic d’activité précédemment observé a disparu et l’activité des juments est apparue davantage distribuée au cours de la journée. Globalement, les expériences 2 et 3 ont conduit à court terme (*i.e.* une semaine) à une augmentation de l’activité basale des individus, hors phase d’anticipation.

Conclusion

La mise en place d’une routine alimentaire a très rapidement conduit à une augmentation de l’activité locomotrice dans les 15 minutes précédant les repas, suggérant que les juments ont appris à associer un signal de l’environnement au nourrissage et que donc l’anticipation serait plutôt signalée que temporelle. L’expérience d’inversion de l’ordre nous a permis de constater que le temps d’attente pouvait être une source de frustration pour les juments. Enfin, si la mise en place d’horaires imprédictibles de nourrissage semble avoir supprimé les comportements d’anticipation, elle a également entraîné une augmentation de l’activité basale des juments à court terme.

Manuscrit en préparation

Manuscript in preparation

**The influence of feeding schedule on horses' activity:
evidence from accelerometers**

GENERAL MATERIAL AND METHODS

During the study, the mares were successively subjected to three different managements of food distribution where they were either able to show anticipation of the feeding time (*i.e.* with predictable feeding time; experiments 1 and 2) or not (*i.e.* when exposed to an unpredictable feeding time planning; experiment 3) (Fig.1). During the predictable schedule experiments, mares could have associated different potential environment cues (*e.g.* noise of the caretaker’s car, view of the wheelbarrow) as a signal for the feeding time. Each of the three experimental procedures was applied for 2 weeks 5 days a week (*i.e.* when mares were stalled).

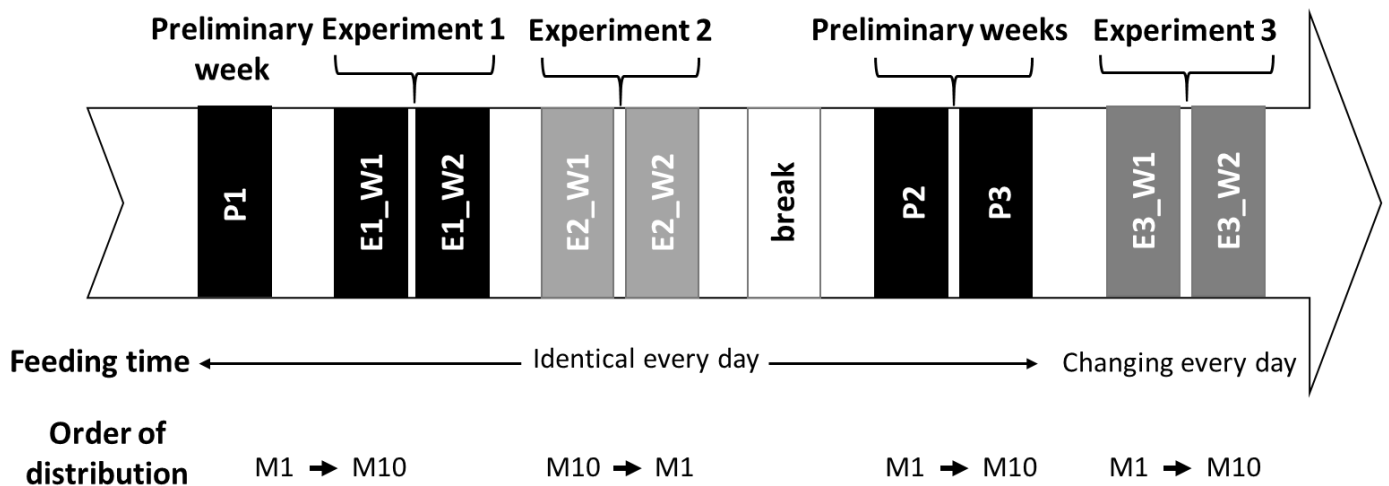


Figure 1: Experimental design of the study.

E1=experiment 1, E2=experiment 2, E3=experiment 3, W1=first week of treatment, W2=second week of treatment, P(1 to 3)=preliminary weeks (*i.e.* setting up of a feeding routine), M=mare (n°1 to n°10).

Subjects & management conditions

Ten Anglo-Arabian mares, aged 8 to 12 years ($X \pm SE = 10.1 \pm 1.3$), all born and living under similar conditions at the IFCE experimental station of Chamberet (France), were included in the study. Mares were kept as one group out in large pastures (with grass) and were fed with

one meal concentrates in a shed located on a corner of the pasture every day at 17:00. The mares were regularly handled by humans for routine procedures (*e.g.* weighing) but not used for work. For the purpose of the present study, mares were housed 5 days a week from 8:30 to 16:00 in straw bedded 4x4m individual stalls, equipped with automatic drinkers, and made of full concrete walls (no social contacts between horses neighbouring but opening on the top of doors that allowed the horses to look outdoors). The ten lined up stalls were placed in an outlying part of the station, away from any disturbance. All individuals had a view on a pasture (without horses) and were able to see the main road, *i.e.* arrival of the caretakers every day to feed the mares (see further) (Fig.2). Hay (5kg) were provided every morning (8:30). At night and during week-end days, the mares were kept outdoors.

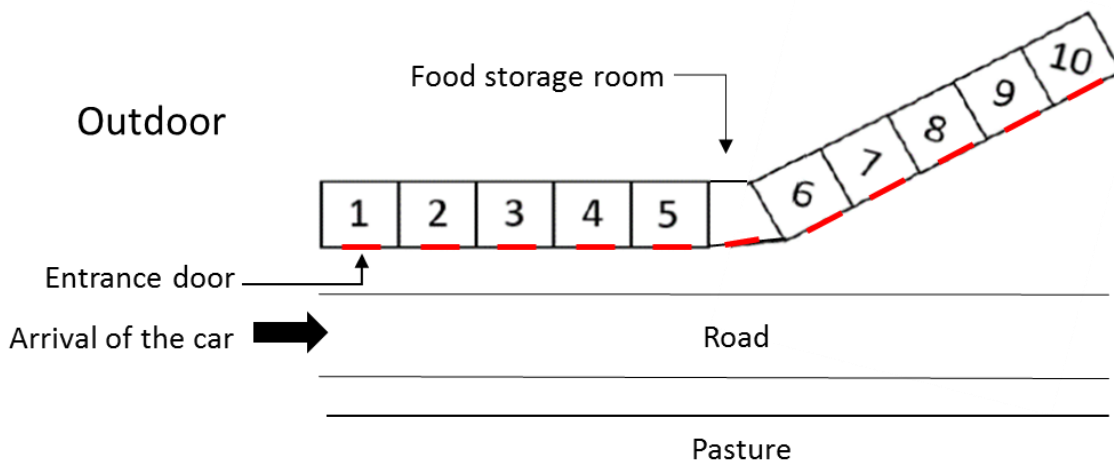


Figure 2: Plan of the stalls line.

Triaxial accelometers and Data recording

As anticipatory behaviour is reported to be characterized by an increase in locomotor activity (among other behavioural changes), we used triaxial accelerometers (IceRobotics®, Edinburgh,

Scotland) to record the locomotor activity of the 10 mares during the three following experiments. The triaxial accelerometer recorded acceleration levels on three axes in space with a frequency of 4 Hertz and thus allowed to continuously monitor an animal’s locomotor (*e.g.* duration of time spent standing, number of steps performed) and lying behaviour (*i.e.* duration of lying bouts) without relying on live observations or video recordings. The use of such technology has already been validated in various domestic species (*e.g.* cattle: Robert et al. 2009; dairy cows: de Mol et al. 2013; dairy calves: Finney et al. 2018) including domestic horses (DuBois et al. 2015; Merkies et al. 2016). For instance, in horses, clear correlations were observed between the data, such as lying duration, recorded with accelerometers and such behaviours measured through direct observations (DuBois et al. 2015).

Every morning, the experimenter (M.S) attached the accelerometer on the left forelimb of each horse and activated the accelerometers. The devices remained attached as long as the horses were in their stall. Consequently, the horses’ locomotor activity was recorded continuously from 08:30 to 16:00 when horses were in stall. The raw data were stored on a micro SD card and transferred to a computer through a wireless data download reader after removal (Kokin et al. 2014). The accelerometer design used in the present study allowed a recording precision of about 15 minutes. Data were summarized in 15-minute blocks and expressed through a motion index score (arbitrary unit) reflecting the horses’ locomotor activity per 15 minutes. This composite score is automatically calculated based on the number of steps performed by the horse. Thus a low score indicates a low locomotor activity and a low number of steps performed by the horse, whereas a high score means that the individual performed a high number of steps and thus an important locomotor activity.

Data analysis

As the mares usually exhibited a high level of arousal each time they were kept for the first day of the week in individual stalls (probably due to the confinement and the social isolation from their social partners), we excluded of the analysis all data recorded on Mondays. Indeed, the motion indices recorded on this day were clearly higher than those recorded in the rest of the week (Friedman test, $N=10$, $df=4$, $9.9 < \chi^2 < 24.4$, $0.0001 < p < 0.01$; post-hoc Wilcoxon tests, $p < 0.05$ in all cases except in comparison to Fridays). Moreover, data from Fridays were excluded too due to some disturbances on the experimental site (*i.e.* recurrent passage of horses on the road in front of the stalls) resulting in a higher level of arousal too compared to Tuesdays, Wednesdays and Thursdays (Friedman test, $N=10$, $df=4$, $9.9 < \chi^2 < 24.4$, $0.0001 < p < 0.01$; post-hoc Wilcoxon tests, $p < 0.05$ in all cases except in comparison to Mondays). Thus, data recorded on Tuesday, Wednesday and Thursday of each treatment were considered for the subsequent analysis. Thus, in order to study globally the mares' locomotor activity performed on a week of treatment, data recorded on these three days were summed per individual per hour for the experiments 1 and 2. For the experiment 3, as feeding times were changing each day, every day was studied here independently.

In order to get an idea of the basic level of the mares' locomotor activity (*i.e.* when they are in stalls, outside feeding time), we calculated an activity baseline per individual. To do so, motion indices recorded during the experiment 1 on the time interval [-2h45; -1h45] before feeding (*i.e.* [11:45; 12:45]), which corresponded to a quiet period without any disturbance, were used. We then summed the three days considered. Additionally, the motion indexes recorded on this time interval during weeks of experiment 2 and 3 were also added for comparison purposes. Lastly, in order to compare the baseline activity with the activity recorded around feeding, we added the motion indexes recorded on the time interval [-0h30; +0h30] around feeding, on the three days considered, per week.

Finally, the total locomotor activity of a day has been determined per horse by adding all the motion indexes recorded from 8:30 to 16:00. An average of the three days considered have been then calculated per week in order to compare the different conditions under which horses were subjected to.

Statistical analysis

As data were not normally distributed, we used nonparametric statistical tests (Siegel and Castellan 1988).

In order to test whether mares showed a modification of their locomotor activity before feeding, we first compared the horses’ locomotor activity between the different times of day for each stage of each experiment (*e.g.* week 1, week 2) using Friedman tests per week. Post-hoc comparisons with FDR corrections were moreover conducted in cases of significance to highlight the differences between hours. Then, the locomotor activity recorded around feeding (*i.e.* [-0h30; +0h30]) has been compared to the baseline activity recorded out of any particular stimulation (*i.e.* [-2h45;-1h45]) using Wilcoxon tests.

Furthermore, we tested whether the locomotor activity of the first five and the last five mares recorded at feeding time was different using one Mann Whitney test per week of experiment. Moreover, we compared the mares’ average motion index between weeks using Wilcoxon tests, considering the first and the last five mares independently.

Finally, Wilcoxon tests were conducted with the aim of testing whether the baseline activity recorded for each week of experiment was different from that recorded during the first week of the routine schedule.

All statistical analyses have been conducted using R software 3.3.1 (alpha threshold set at 0.05).

- **Experiment 1: Anticipatory activity in a routine procedure**

Procedure

In order to create a feeding routine, the ten mares were set up to a predictable feeding time schedule during two weeks (E1W1, E1W2) in their individual stalls. Mares were fed at the same time, *i.e.* 14:30, and in the same distribution order, *i.e.* from the mare 1 (M1) to the mare 10 (M10) (see Fig.1).

The procedure was as follows: at 08:30 mares were led in their individual stalls (after having spent the night outdoors) in which hay (5kg) and water *ad libitum* were available, were fed concentrates at 14:30 and led back outdoors at 16:00. The caretaker arrived by car (NB: the same car was used all along the study) three minutes prior to the feeding (*i.e.* concentrates) time, from the main road crossing the station, parked in front of the main door, entered into the food storage room (placed in the middle of the stalls line; see Fig.2), took the wheelbarrow filled with concentrates out of sight of the horses, went out from the room and started to feed the first mare (M1) and the following ones until the last stall (M10). The caretaker spent between 3 and 7 minutes ($X \pm SE = 4.6 \pm 1$ minutes) to feed all individuals.

Results

As soon as the first week of the experiment 1, there was a significant increase of the locomotor activity in the 15 minutes preceding food distribution (*i.e.* [14:15; 14:30]), *i.e.* the time when the caretaker arrived in front of the stall, went out of the car and took the food, showing that mares clearly anticipated the arrival of food, as early as the first week of experiment. This phenomenon was observed over all three days of the first and second week of the experiment 1. The average motor index recorded at that time was indeed significantly different from that observed at all the other hours (*i.e.* from -4h45 to +2h00) in both weeks (Friedman tests and post-hoc comparisons, χ^2 [E1W1] = 127.9, df = 27, $p < 0.001$; χ^2 [E1W2] = 115.86, df = 27,

$p < 0.001$) (Fig.3). A particular contrast was noted between the last average motion index recorded before feeding time (*i.e.* -0h15) and that measured at feeding time *per se*. Indeed, activity at feeding time (E1W1: $X \pm SE = 803.8 \pm 129.4$; E1W2: $X \pm SE = 642.8 \pm 88.8$) was more than twice higher than that recorded just before that the one recorded just before (E1W1: $X \pm SE = 323.1 \pm 114.3$; E1W2: $X \pm SE = 335.5 \pm 50.1$). There was no significant difference between the five first and five last mares neither on the first (Mann Whitney test, $N_1 = 5$, $N_2 = 5$, $W = 13$, $p = 1$) nor the second week (W=18, $p = 0.3$) of experiment.

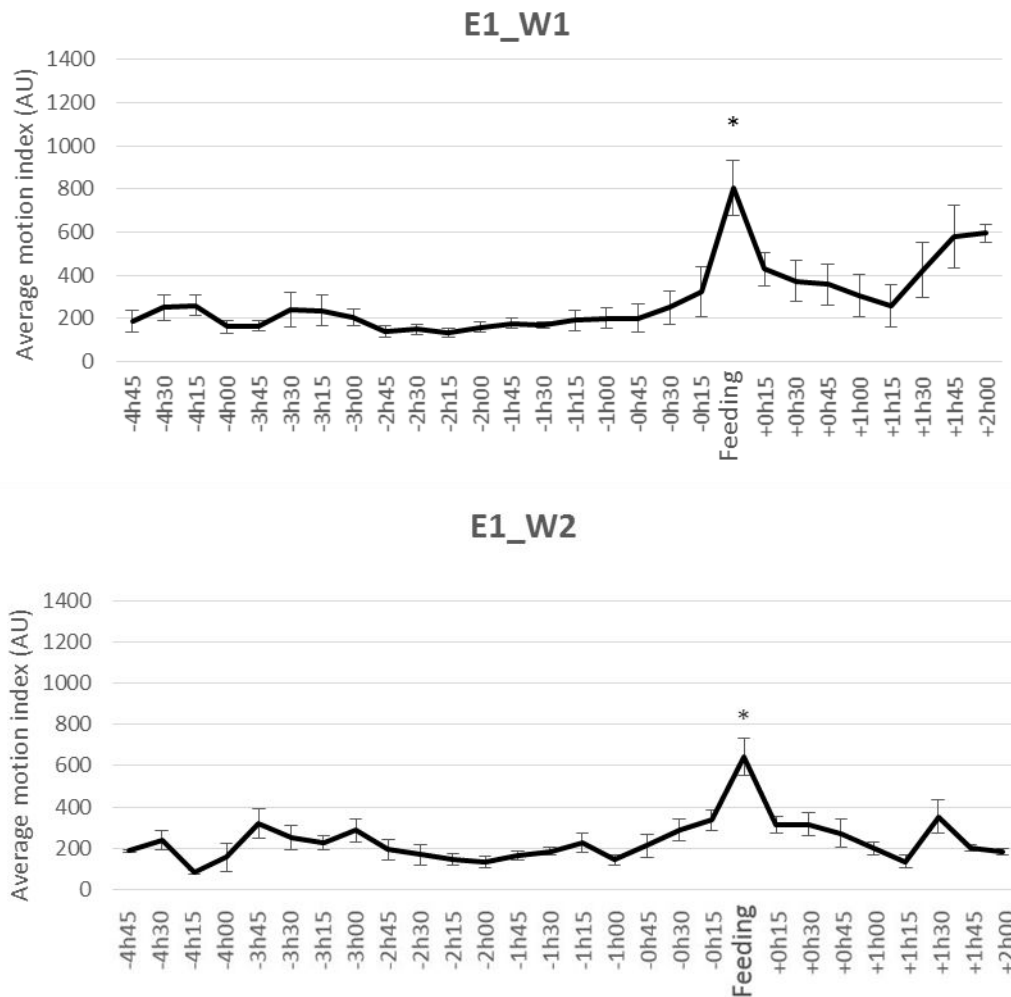


Figure 3: Individuals’ average motion index according to the feeding time, recorded on the a) first and b) second week of experiment 1. Indicated hours are related to the feeding time (*i.e.* feeding time= [14:15; 14:30]; -0h15= [14:00; 14:15]); +0h15= [14:30; 14:45]). Friedman test, * $p < 0.05$.

Furthermore, we found that the mares’ locomotor activity baseline, recorded out of any specific stimulation, *i.e.* [11:45; 12:45] on the first week of experiment 1, was clearly lower to the locomotor activity recorded at the feeding time more or less 30 minutes (*i.e.* [-0h30; +0h30]) for each week of the experiments (Wilcoxon tests, N=10, Z=2.8, p=0.005 in both cases), 2 (Z=2.8, p=0.005) and 3 (Z=2.8, p=0.005) (Fig.4).

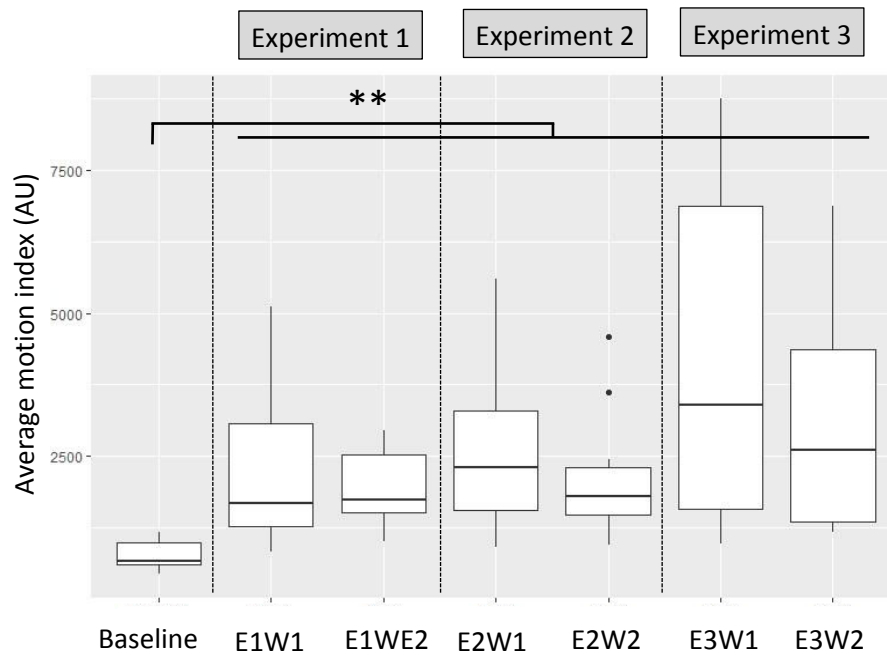


Figure 4: Comparison of the average routine baseline activity recorded on experiment 1 with the average activity recorded at the time interval [-0h30; +0h30] according to the week experiment.

Wilcoxon tests, **p<0.01 comparisons of the baseline situation to each week of experiment (either 1, 2, or 3).

Conclusion

Mares showed a clear anticipation in the 15 minutes preceding the feeding time, suggesting that anticipation was triggered by the apparition of an environmental signal (*e.g.* caretaker’s car arrival). The locomotor activity recorded at that time was higher to that recorded out of the

feeding time, and this was true for each week of experiment. Thus, feeding time anticipation was characterized by a significant increase of locomotor activity.

- **Experiment 2: Impact of rank order on anticipatory response**

Procedure

The regular order of distribution experienced during the routine (*i.e.* from mare M1 to mare M10) was reversed (*i.e.* from mare M10 to mare M1) for two weeks (E2W1, E2W2): the horse served the latter was now served first (see Fig.1) but there was no other change in routine.

Results

Similarly to the first experiment, a significant peak of activity was recorded in the 15 minutes preceding the feeding time both in the first and second week of treatment (Friedman tests and post-hoc comparisons, χ^2 [E2W1] = 111.1, df = 27, $p < 0.001$; χ^2 [E2W2] = 110.3, df = 27, $p < 0.001$). However, when considering the five first and five last mares independently, it appeared that there was an impact of the feeding order on the horses’ activity. Horses served later appeared to show a higher locomotor activity than the others served first, but no significant difference has been highlighted between the two groups of horses during all the weeks (Mann Whitney tests, $N_1=5$, $N_2=5$, $6 < W < 19$, $p > 0.05$ for all the weeks). However, we found that the locomotor activity recorded for M1 to M5 mares at feeding time of experiment 2 was significantly higher during both the first (Wilcoxon tests, $N=5$, $Z=2$, $p=0.04$, except in comparison with E1W1: $Z=1.2$, $p=0.2$) and the second week ($Z=2$, $p=0.04$ in all cases, except in comparison to P3, $V=1.7$, $p=0.07$) compared to experiment 1 and preliminary weeks P3 and P4. On the contrary, activity of M6 to M10 mares did not significantly differ between order reversal’s and experiment 1’s weeks ($9 < V < 12$, $p > 0.05$).

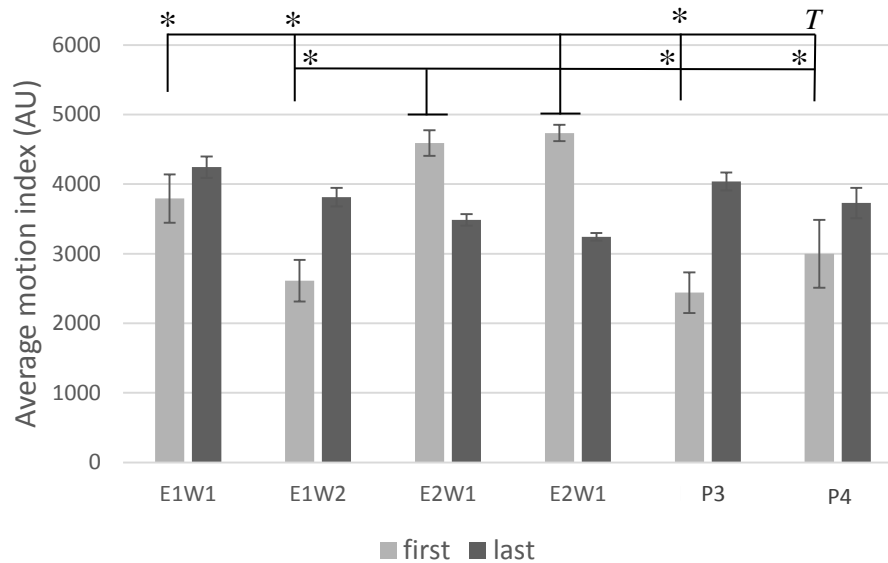


Figure 5: Average activity (\pm SE) recorded at feeding time in the first five mares (black bar) and in the last five mares (grey bar) according to the experiment. Wilcoxon tests, T 0.05 p <0.1, * p <0.05.

Conclusion

The order reversal appeared to increase the locomotor activity of the mares used to be fed first, suggesting a potential impact of the waiting time on anticipatory behaviours.

- **Experiment 3: Impact of predictability of food distribution on anticipatory behaviour**

Procedure

In order to study the impact of an unpredictable feeding schedule time on the horses’ anticipation, we exposed the mares to different feeding times randomly assigned for each day during two successive weeks (E3W1, E3W2) (see Fig.1). The five following feeding times were applied depending on the staff members’ constraints: the former routine hour (*i.e.* 14:30), three hours preceding (*i.e.* 11:30; 11:50; 13:30) and one hour succeeding (*i.e.* 15:30) the original

routine feeding time, making in all cases the feeding time unpredictable. The distribution order was unchanged compared to the first “routine” experiment (*i.e.* from the mare M1 to the mare M10). This third experiment was conducted after one week of break (*i.e.* mares were kept outdoors in their familiar pasture without any additional treatment) and after two weeks following the scheme of the first experiment (two preliminary weeks, P2 and P3; see Fig.1). Thus, the mares got used again to both the initial feeding schedule and order of distribution and thus had expectation about the feeding time prior to starting to change on a daily basis.

Results

We found that setting up an unpredictable feeding time schedule after seven weeks of regular feeding routine had an impact on the mares’ locomotor activity. Indeed, the peak of activity observed previously 15 minutes within the feeding time (*i.e.* at 14:30) disappeared on all days of Experiment 3. Thus, the activity recorded at 14:30 did not differ significantly anymore from the other hours, except on Tuesday of the first week, where the feeding time was identical to the routine one (Friedman tests and post-hoc comparisons, $df=27$, $43.8 < \chi^2 < 124.6$, $p > 0.05$) (Fig.6).

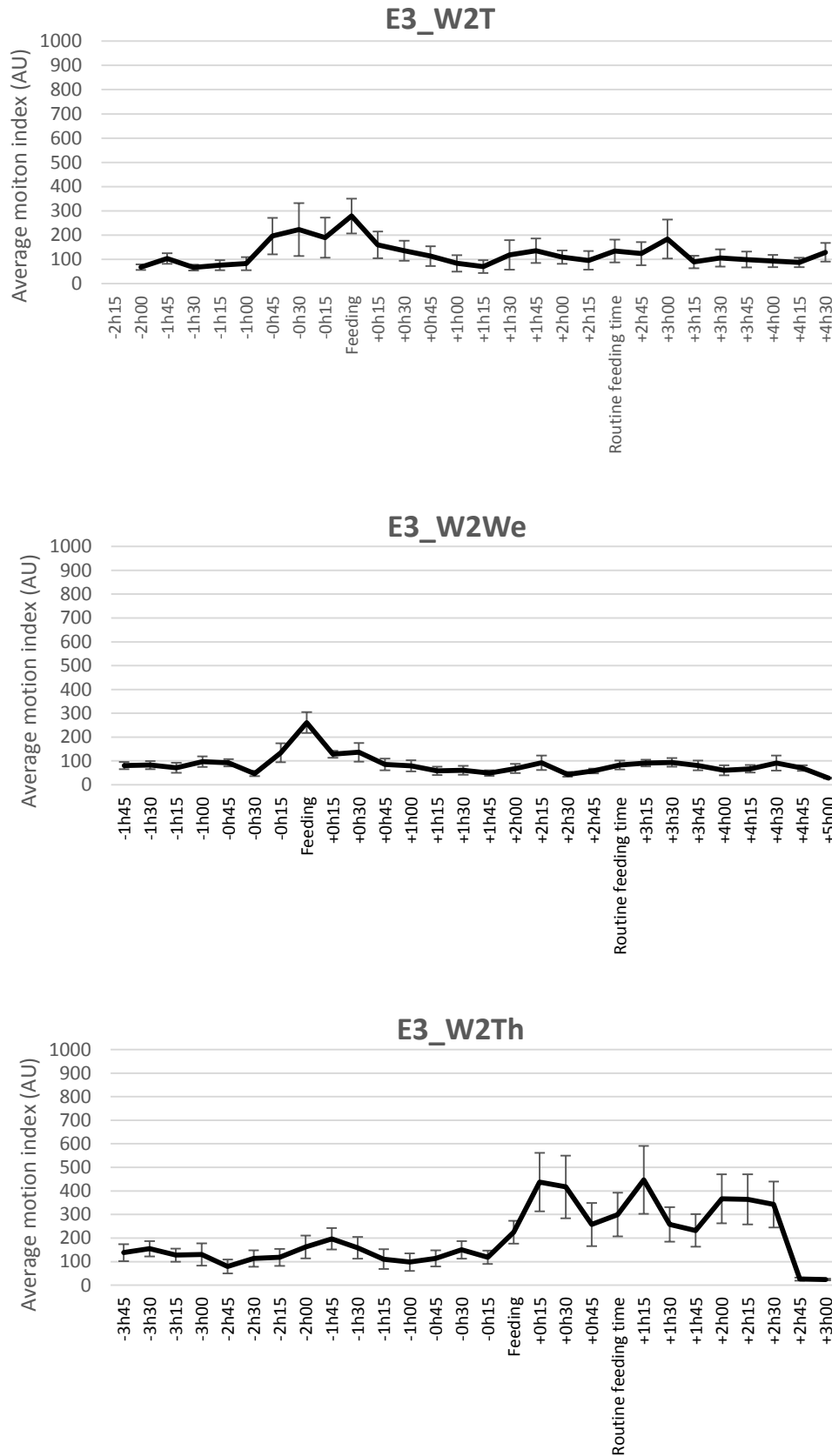


Figure 6: Individuals’ average locomotor activity according to the actual feeding time recorded on a) Tuesday, b) Wednesday and c) Thursday of the second week of Experiment 3. Hours are related to the actual feeding time (=Feeding).

Conclusion

When the feeding schedule became unpredictable, the mares did not show any increase of their locomotor activity in the 15 minutes preceding the actual feeding time. This result suggests that the setting up of an unpredictable environment removed anticipatory behaviours.

Additionally of all these observations, we found that a change in one of the routine’s parameter had globally an impact on the baseline activity recorded out of feeding time, *i.e.*, [-2h45; -1h45]. Indeed, we noted an increase of the locomotor activity baseline recorded during experiments 2 and 3 compared to the routine one (*i.e.* baseline, experiment 1), but only for the first week of each experiment (Wilcoxon tests, N=10, E2W1 and E3W1: Z=2.8, p=0.005 in both cases; E2W2: Z=0.56, p=0.57; E3W2: Z=1.68, p=0.09). (Fig.7).

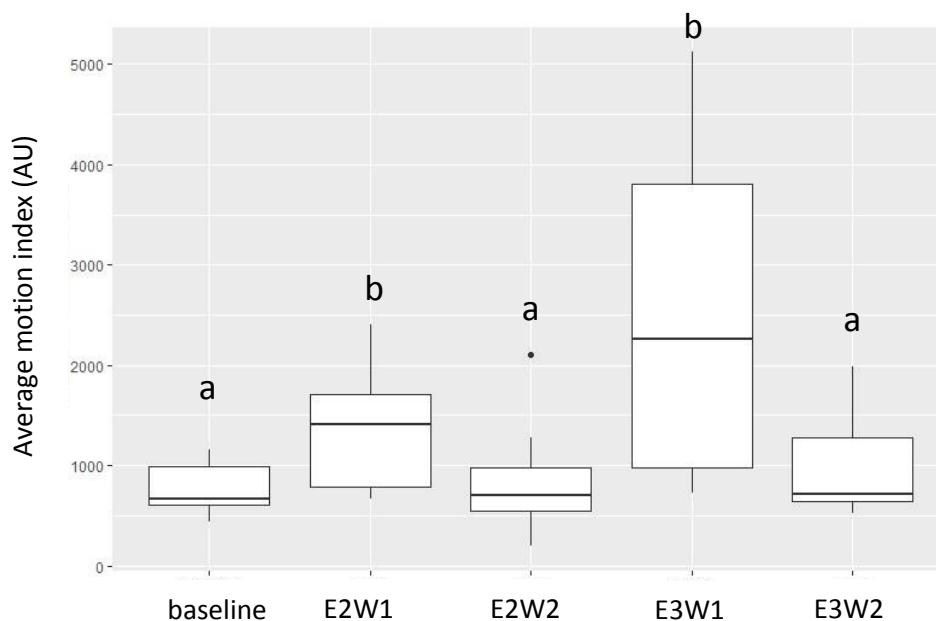


Figure 7: Comparison of the average routine baseline activity with the average baseline activity recorded at the time interval [-2h45; -1h45] for each week of experiment. Wilcoxon tests, comparison of the activity baseline recorded in experiment 1 with each activity baseline of the other experiments’ weeks, two different letters means a significant difference.

General conclusion

The setting up of a regular feeding schedule rapidly triggered anticipatory behaviours in the mares in the 15 minutes preceding the feeding time, suggesting that individuals learned to associate an environmental cue with the food distribution. Additional behavioural observations would be necessary to confirm this suggestion and try to determine the actual trigger signal. Moreover we showed that the waiting time during the feeding distribution appeared to be a source of frustration for the mares since an increase of that time was associated with an increase of their locomotor activity. However, given that on one hand the time took by the caretaker to feed all the horses was comprised between 4 and 7 minutes and that on the other hand accelerometers’ data were summarised in 15 minutes blocks, further behavioural analysis would be useful to confirm the suggested pattern observed here. Finally, whether the unpredictability of the feeding time removed anticipatory behaviours, we showed that globally changes of one of the “routine” parameters had a negative impact on the mares’ daily behaviours since it increased their baseline level of activity. However, it seemed that individuals rapidly got used to each treatment given that their level of activity recorded out of feeding time returned to the “routine” baseline level for each second week of treatment. Prolonged experimental treatment would be interesting to evaluate whether this pattern would stabilize in time.

Synthèse de l’article 2

Question

Partant du postulat que les comportements d’anticipation d’un évènement positif traduisent un état hautement motivé de l’animal sous-tendu par l’activation du système de la récompense, plusieurs auteurs proposent que ces comportements soient le reflet d’émotions positives. Si les comportements d’anticipation ont été décrits chez plusieurs espèces, jusqu’à présent une seule étude a tenté de les caractériser chez le cheval. Les comportements observés lors de l’anticipation d’une ressource convoitée se traduisent généralement par une augmentation de la locomotion, une attention accrue envers la source de l’évènement positif, mais aussi, très souvent, par l’apparition de comportements anormaux répétés et stéréotypiques. Ces observations posent alors question quant à la prise en compte des comportements observés lors de cette phase comme indicateur d’émotions positives.

Méthodes

Dix-neuf chevaux d’un centre équestre ont été observés lors de deux sessions (*i.e.* matin et soir) d’anticipation des repas de concentrés. Contrairement au soir, une portion de foin était délivrée le matin 30 minutes avant la distribution des concentrés. Tous les comportements exprimés dans les 30 secondes suivant l’apparition du signal (*i.e.* arrivée du soigneur dans la pièce de stockage des aliments) et les 30 secondes précédant la distribution de nourriture de chaque individu ont été particulièrement analysés. En parallèle, une évaluation de l’état de bien-être des individus a été réalisée, en dehors des phases d’anticipation, en mesurant des indicateurs comportementaux (*e.g.* taux de stéréotypies) et posturaux (*e.g.* position des oreilles en alimentation) validés.

Résultats

Lors de la phase d’anticipation, les individus ont été principalement observés avec une attention visuelle vers le couloir et en alimentation (foin). Conformément à la littérature, des comportements plus rares ont été également observés tels que des comportements d’excitation/frustration ou encore des comportements stéréotypiques. Une augmentation des comportements d’excitation/frustration et comportements anormaux, ainsi que de l’attention envers la nourriture, a été décelée dans les 30 secondes précédant la distribution effective de nourriture. De plus, une augmentation de ces comportements a été mise en évidence lors de la session du soir en comparaison à celle du matin. Le rang de distribution a eu aussi un impact sur les comportements observés : le soir, plus les chevaux étaient servis tard, plus ils exprimaient un état interne négatif. Une corrélation positive a été observée entre le temps passé dans l’établissement et le temps passé avec une attention visuelle vers le couloir, tête dehors, et le temps passé en locomotion lors de l’anticipation. Enfin de nombreuses corrélations ont été établies entre l’état de bien-être et les comportements observés en anticipation, particulièrement le matin. Globalement, plus l’état de bien-être était altéré, plus les chevaux ont exprimé des comportements d’excitation/frustration et comportements anormaux, associés à un temps passé majoritairement les oreilles en arrière.

Conclusion

La phase d’anticipation s’est caractérisée par l’apparition de comportements rares pouvant traduire de la frustration, d’autant plus à l’approche de la distribution effective du repas. La présence, ou non, de foin est apparue importante sur l’expression de ces comportements. Il semblerait que l’augmentation d’épisodes d’anticipation augmente la sensibilité des individus à exprimer des comportements de frustration une fois exposés à une ressource convoitée. Enfin, plus l’état de bien-être était altéré, plus les chevaux ont montré des comportements typiques de l’anticipation. L’ensemble de ces résultats semblent suggérer que les comportements d’anticipation ne constituent pas un indicateur fiable d’émotions positives.

Manuscrit en préparation

Manuscript in preparation

Are anticipatory behaviours reliable indicators of positive emotions? A study in domestic horses

MATERIAL AND METHODS

Ethical note

The study was carried out in 2017 in accordance with the European Parliament and the European Union Council directive 2010/63/UE relative to the protection of animals used for scientific purposes and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree n°2013-118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under n° R. 214-87 à R.214-137). Being only observational, our study did not require any further ethical authorization. The private owner of the riding school allowed our research to be conducted on his site. Animal husbandry and care were under the management of the riding school staff.

Subjects & management conditions

Nineteen horses (14 geldings and 5 mares), aged 4 to 15 years ($\bar{X} \pm se = 10.5 \pm 3$), from different breeds (Thoroughbreds: 25%, French Saddlebreds: 15%, and unregistered animals) living in a French riding school in Brittany were studied. All animals had been in the same facility and under the same conditions for at least one year (1 to 6 years). Horses were kept in a barn, in straw bedded 3.40m x 3.30m individual stalls, with door openings and grids in the wall allowing some contacts (*e.g.* olfactory, visual, tactile) with conspecifics. Each day, they were fed concentrates twice (at 9:30am and 6:00pm) and hay (6-7kg) once (at 9:00am). Hay was laid directly on the ground whereas pellets were dropped off in troughs located at one of the frontal corners of each stall. All horses went out to paddocks (with grass) one to four hours per day, with variable social partners. They were also used for riding lessons with typical English riding style (riders from beginners to experienced) 4–12 hours per week under the supervision of a riding teacher.

Data collection & analysis

Observations of anticipatory behaviours

Anticipatory behaviours have been recorded before two concentrate meals, one in the morning (N=19) (*i.e.* 9:30) and one in the evening (N=17) (*i.e.* 18:00). Among the different stimuli present around feeding time, the entrance of the caretaker into the room where the concentrates are stored constituted the main cue signalling the arrival of food. Preliminary observations showed that the arrival of the caretaker into the feeding room triggered an increase of activity in horses, thus we considered this cue as a signal of the arrival of food highly predictable for the horses. In order to record the anticipatory behaviours, video surveillance cameras (Axis® M1065-L Fixed Network Camera) were placed in front of each stall, so that the whole inside of the stalls was visible, and horses were videotaped from the appearance of the signal until feeding.

Behavioural analysis

The behavioural transcription of the video recordings was made by a single experimenter (C.L.) blind of the welfare assessment, using the Behavioral Observation Research Interactive Software (BORIS v6.3.6, a free and open source software, [DOI: 10.1111/2041-210X.12584](https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584)), following the “all occurrences” method (Altmann 1974). All expressions as well as the duration of each behaviour were recorded.

The following behavioural categories were recorded: Foraging; Maintenance; Locomotion; Observation of the environment; Exploration of the environment; Looking towards the back of the stall; Visual attention; Threats; Excitement/frustration behaviours; Licking the lips / Chewing; Abnormal repetitive behaviours; Vocalizations (see Table 1).

Some postural elements were also measured:

-Ears position: backwards, forwards, sideways (see also Stomp et al. 2018).

-Orientation in the stall: towards a wall, towards the back, towards the door.

-Head position: inside or outside the stall.

Table 1: Behaviours recorded during the study.

Behavioural category	Description
Foraging	Eating the straw, the hay
Maintenance	Urination, Defecation, Scratching
Locomotion	Movement of the horse in the stall, excluding the stereotypic “box walking” (<i>i.e.</i> repetitive tracing a route within the stall).
Observation of the environment	Observation of the corridor in a calm quiet attitude (<i>i.e.</i> standing motionless with the neck horizontal or slightly elevated, ears and neck mobile, and slowly scanning the environment by moving the head laterally)
Exploration of the environment	Smelling the bars, Extension of the head and neck towards an object of the environment
Looking towards the back of the stall	Turning the neck and head to look at the back of the stall or at the window
Visual attention	-Towards food: Looking at the trough or at the food, Sniffing the trough, Looking at the caretaker carrying the food. -Towards the corridor: Sustained attention towards the corridor, ears pointed forwards with the head and neck in an elevated position

Threats	Threatening humans or congeners, Aimless threats
Excitement/Frustration behaviours	Lateral shaking of the head (not repetitive), Pawing, Startling
Licking the lips / Chewing	Licking the lips Chewing
Stereotypic & Abnormal repetitive behaviours (SB/ARB)	Tongue movement, weaving, head shaking/nodding
Vocalizations	-Nicker: Low/medium amplitude call given with the mouth shut but the nostrils extended, commonly heard in specific social context (<i>e.g.</i> close greeting between a mother and her young, stallion meeting an oestral mare or stable mates) (Kiley 1972) -Whinnies: High amplitude call characteristic of isolation from conspecifics, particularly social partners, (<i>e.g.</i> stable mates, an oestral mare from the stallion, or mother from young) (Kiley 1972)

The first horses to be fed were housed close (*i.e.* 10m) to the storage room and fed 30 seconds in average after the caretaker arrival. Thus, for each horse, we analysed the first 30 seconds following the caretaker entrance in the room (*i.e.* post signal period, PS) and the last 30 seconds before the food distribution into the trough of the focal horse (*i.e.* pre meal period, PM), resulting in 1min analysis in total. For the horses fed 30s after the signal (N=3), the video recording was considered as PM only. Hay was provided 30 minutes before the concentrate meals in the morning, while there was little or no hay remaining in the evening. Therefore, morning and evening sessions were analysed separately.

Behavioural data were analysed as the total number of each behaviour displayed per time period (PS and PM) (*i.e.* number of occurrences per 30s), as well as the total percentage of time over the entire time period considered. Postural data were analysed as the total time spent in the different positions as well as the total number of position changes.

Considering that less abnormal repetitive behaviours were observed before meal time when all the horses were fed simultaneously with an automatic feeder (Fureix et al. 2011a), we attributed a feeding rank per horse according to the order of distribution followed by the caretaker. Thus the horses’ anticipatory behaviours were additionally analysed according to their feeding rank.

Welfare assessment & data analysis

Welfare assessment was similar to that used by Stomp et al (2018) and was based on an array of validated behavioural (*i.e.* abnormal repetitive behaviours and aggressiveness towards humans) and postural (*i.e.* ears position while eating and orientation towards a full wall of the stall) indicators. All observations and tests were performed by one trained experimenter (M.S.) during week days and most of the time during quiet hours (*i.e.* outside teaching activities). Two weeks were required to conclude all the observations.

- Stereotypic behaviour (SB) and other abnormal repetitive behaviour (ARB) (see Table 2)

Stereotypic behaviour (defined as ‘repetitive behaviour induced by frustration, repeated attempts to cope and/or brain dysfunction’; Mason et al. 2007) and other abnormal repetitive behaviours are known in horses to increase with inappropriate living conditions (*e.g.* Mills 2005) and chronic stress (Mason and Rushen 2006) in horses. Six sessions of 10-min observation (*i.e.* 60 min in total per horse) were performed when horses were in their home stall. Observations were made during three time periods (twice for each time period): morning

([10:00-12:00]), afternoon ([14:00-17:00]) and 30 min before the evening meals (*i.e.* [17:30-18:00]) (favourable for observing abnormal repetitive movements (*e.g.* Mills 2005; Fureix et al. 2011a; Lesimple and Hausberger 2014). The sampling was on an all-occurrence basis (*e.g.* Hafez 1962; Visser et al. 2008), with half of the horses being observed simultaneously, which means that the behaviours concerned were scored each time they occurred together with the horse identity.

Data recorded were the number (per hour) of stereotypic behaviours and other abnormal repetitive behaviours displayed by each individual.

Table 2: Type, classification and description of recorded abnormal repetitive behaviours, from Mills (2005).

SB/ARB behavioural description	Type
head tossing / nodding: vertical movements of head and neck	motor
striking with forelimb: the horse hits the door or wall with one of its forelegs	motor
box walking: repetitive tracing a route within the stable	motor
head movements (other than head tossing / nodding): movement of the head	motor
lips shivering : shivering of the lower lip	motor
repetitive displacement of the saddle support on the stall's door	motor
cribbing / windsucking: the horse grasps a fixed object with its incisors, pulls backwards and draws air into its oesophagus	oral
tongue movements: movements of tongue, inside or outside the mouth	oral
repetitive biting: biting of the same object in its environment (except the trough)	oral
repetitive licking: licking of the same object in its environment (except the trough)	oral

- Human-directed aggressiveness during human-horse relationship tests

Aggressiveness in horses is indicative of a negative chronic state often resulting from discomfort or pain for example (Fureix et al. 2010b, 2012a) and it is used in a variety of welfare and pain scales (*e.g.* Ashley et al. 2005; reviewed in Hausberger et al. 2016). Social isolation

has been shown to lead to aggressive behaviours towards human, while working for instance (Rivera et al. 2002). In order to test individual aggressiveness, horses were submitted in their home stalls to three standardized human-animal relationship tests (*e.g.* Hausberger et al. 2008; Fureix et al. 2009) performed in the following order: a sudden approach test, repeated on five occasions (*e.g.* Hausberger and Muller 2002; Rochais et al. 2018a), a motionless person test (*e.g.* Henry et al. 2006) and an approach-contact test (*e.g.* Henry et al. 2005). Data recorded were the total number of agonistic behaviours (including ears laid back, threats and attempts to bite) displayed by horses during the three tests (as in Fureix et al. 2009; Henry et al. 2017).

- Ear backwards position while feeding in stall

Ear pointing backwards is associated with negative emotional states in horses, including pain (*e.g.* Ashley et al. 2005; for a review: Hausberger et al. 2016) or agonistic interactions (*e.g.* Waring 2003). Observations were made in the stables in calm conditions (outside pellets meal times, day off, 2 to 5 pm, no wind). In order to have homogeneous conditions, the observer recorded ears positions only if the horse did not show any reaction (*i.e.* no change in behaviour) when she was observing, and in a single context: the horse had to be foraging on hay or straw or grass, head down as it has been shown to be a reliable context for assessing welfare (Fureix et al. 2010a; Lesimple et al. 2016; Henry et al. 2017). Four ears position were defined: forwards, backwards, sideways and asymmetrical (for more details see: *e.g.* Lesimple et al. 2016). Ears position while feeding were scored using an instantaneous scan sampling method (Altmann 1974) with a scan every 2 minutes for 30 minutes (*i.e.* a total of 16 scans). Two sessions, one in the morning, one in the afternoon, were conducted per individual during two consecutive days during quiet hours where all the horses were eating, leading to a total of 64 scans per horse. The percentages of scans including backwards ear position were calculated for each horse.

- Orientation in the stall

The orientation towards the wall in the stall has been shown to reflect a lack of interest towards the environment and has been associated with potential health (*e.g.* anaemia) problems (Hausberger et al. 2016) while observation of the environment is more related to “positive” welfare (Rochais et al. 2016a). The horse's orientation in their home stalls was noted using instantaneous scan sampling method (Altmann 1974) for 30 minutes with 2-min intervals (*i.e.* a total of 16 scans), outside feeding time, as follows: towards either a full wall (back wall, partitions) or outside (window or door top). Two sessions, one in the morning, one in the afternoon, were conducted per horse during two consecutive days (a total of 64 scans per horse). The percentages of scans including an orientation towards a full outside feeding time wall was calculated.

- Overall welfare assessment

We calculated for each horse a total chronic stress score (TCSS), adapted from Hausberger et al. (2012)' and Henry et al (2017)'s studies, reflecting how much the chronic welfare state was altered (see also Stomp et al. 2018). TCSS calculation consisted in ranking the horses according to 1) the number of human-directed aggressive responses during the three human-horse relationships tests, 2) the number of abnormal repetitive behaviours (including stereotypies) displayed in an hour, 3) the percentage of scans spent with ears backwards while feeding, and 4) the percentage of scans spent facing the wall outside feeding times. For all of variables, the higher the value, the poorer the welfare state and the higher the rank attributed to the horse was. TCSS was then computed by summing for each horse the four calculated ranks, so that at the end, the poorer the welfare of the horse, the higher its TCSS.

Statistical analyses

As data were not normally distributed, we used nonparametric statistical tests (Siegel and Castellan 1988).

The differences between the observation periods (PS vs PM) and the meal time (morning vs afternoon) were assessed using Wilcoxon tests. Mann Whitney tests were conducted in order to test the sex effect on anticipatory behaviours. Spearman correlations were used to test the relationships between the anticipatory behaviour and the horses’ 1) feeding rank, 2) age, 3) time spent in the facility and 4) welfare state. Given that races were too diverse, we did not test the impact of this intrinsic parameter.

All statistical analyses have been conducted using R software 3.3.1 (alpha threshold set at 0.05).

RESULTS

1) Anticipatory behaviours

Both in the morning (M) and the evening (E) sessions, classical behaviours were observed: forage ($N_M=11$, $N_E=5$), moving inside the box ($N_M=5$, $N_E=7$), exploring the environment (*e.g.* smelling the bars) ($N_M=7$, $N_E=4$), quiet observation of the environment (mostly the corridor) ($N_M=9$, $N_E=11$) and maintenance patterns (*e.g.* urinating, scratching) ($N_M=4$, $N_E=3$). Horses also expressed behaviours related to the food arrival (*e.g.* looking at the caretaker, looking at the wheelbarrow, looking at and smelling the through) ($N_M=9$, $N_E=11$), or related to a high emotional context: excitement behaviours (*e.g.* whinnies, startles, pawing, swishing tail) ($N_M=7$, $N_E=7$), stereotypic/abnormal repetitive behaviours (*e.g.* weaving, head and lips movements) ($N_M=4$, $N_E=6$), chewing ($N_M=7$, $N_E=8$), licking lips ($N_M=6$, $N_E=2$), nickers ($N_M=9$, $N_E=12$), threats ($N_M=4$, $N_E=2$). Some horses were also seen having looks at the back of the stall

($N_M=5$, $N_E=5$), and facing a wall (*i.e.* the head stuck against the wall) ($N_M=2$, $N_E=2$). It is to note that two horses were seen resting in the evening, but not in the morning.

Before the morning meal, horses spent most of their time with visual attention towards the corridor ($\bar{X}\pm\text{se}:22.3\pm4.5\%$), foraging on hay ($\bar{X}\pm\text{se}:20.77\pm6.4\%$) or observing the environment ($\bar{X}\pm\text{se}:19.78\pm6.4\%$). Less than 10% of time was dedicated to the attention towards food ($\bar{X}\pm\text{se}:9.8\pm3.77\%$) and rare behaviours such as Threats, Nickers, Excitement behaviours, Licking the lips and Chewing ($\bar{X}\pm\text{se}:9.5\pm2.5\%$). Around 5% of the time was spent looking at the back of the stall ($\bar{X}\pm\text{se}:5.6\pm2.2\%$) and facing a wall ($\bar{X}\pm\text{se}:5.4\pm4\%$) and smaller amount of time was dedicated to maintenance behaviours ($3.1\pm2.3\%$) and moving ($2.9\pm1.2\%$). Stereotypic and abnormal behaviours represented only $0.8\pm0.6\%$ of the horses’ time (Fig.1).

Before the evening meal, horses spent as well most of their time paying attention to the corridor ($\bar{X}\pm\text{se}:27.36\pm5.5\%$) and observing the environment ($\bar{X}\pm\text{se}:24.6\pm5.9\%$). Around 20% of the time was divided between foraging activity ($\bar{X}\pm\text{se}:11.7\pm5.1$) and attention towards food ($\bar{X}\pm\text{se}:11.7\pm2.2\%$). Smaller amounts of time ($\leq 5\%$) were dedicated to looking at the back of the stall ($\bar{X}\pm\text{se}:5.2\pm2.6\%$), moving ($\bar{X}\pm\text{se}:3.5\pm1.6\%$), facing a wall ($\bar{X}\pm\text{se}:3.3\pm1.7\%$) and maintenance behaviours ($\bar{X}\pm\text{se}:2.6\pm1.6\%$). Finally, horses were observed less than 1% of the time exploring their environment ($\bar{X}\pm\text{se}:0.6\pm0.6\%$). Stereotypic and abnormal repetitive behaviours represented $2.1\pm2.3\%$ of the horses’ time (Fig.1).

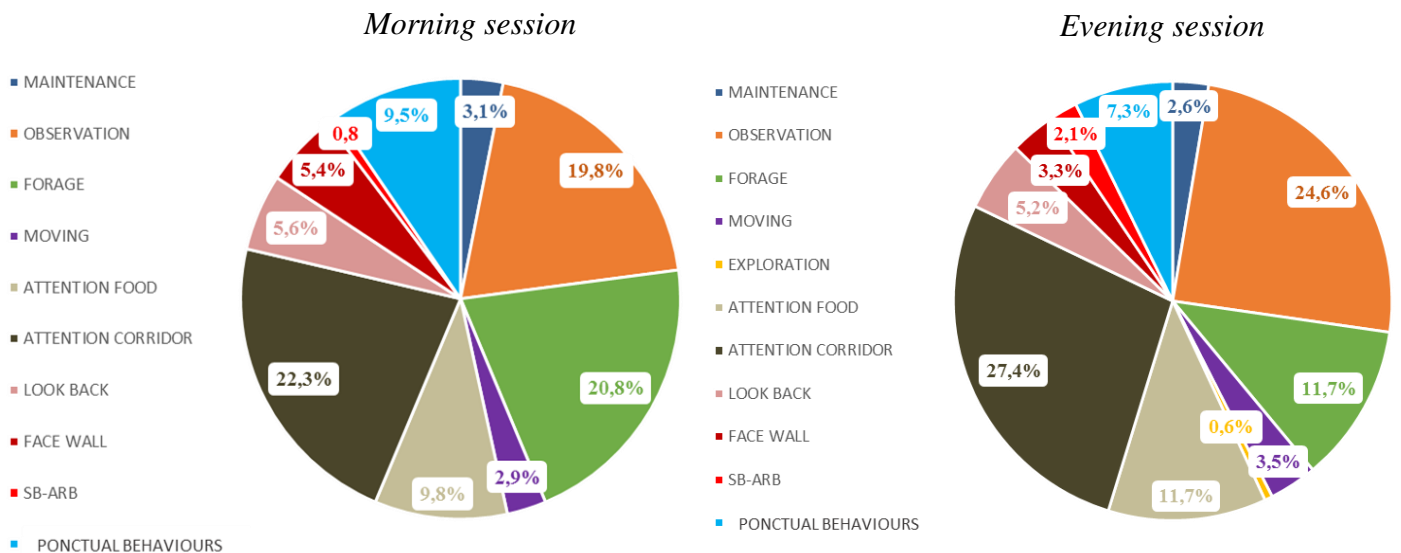


Figure 1: Average time budgets recorded over the entire anticipation phase according to the session: morning (on the left) or evening (on the right).

2) Factors of influence

2.1 Extrinsic factors

Time of the day

Globally horses were more attentive to the food ($V=0$, $p=0.0003$), looked more often at the back of the stall ($V=0$, $p=0.006$) and produced more nickers ($V=8.5$, $p=0.0005$) in the evening compared to the morning. Moreover, an increase of the excitation was observed in the evening as horses exhibited more changes of orientation in the stall ($V=69.5$, $p=0.022$) and head position ($V=28.5$, $p=0.04$), expressed significantly more excitation/frustration (Wilcoxon test, $N=13$, $V=13$, $p=0.02$) and SB/ARB ($V=1.5$, $p=0.02$) (Fig.2).

In the post-signal period, horses changed more often their orientation in their stall (Wilcoxon test, $N=13$, $V=3$, $p=0.003$), but expressed less changes in ears position ($V=78$, $p=0.002$) in the

evening. Moreover, in the pre-meal period, horses exhibited more abnormal behaviours in the evening compared to the morning (Wilcoxon test, $N=15$, $V=0$, $p=0.03$).

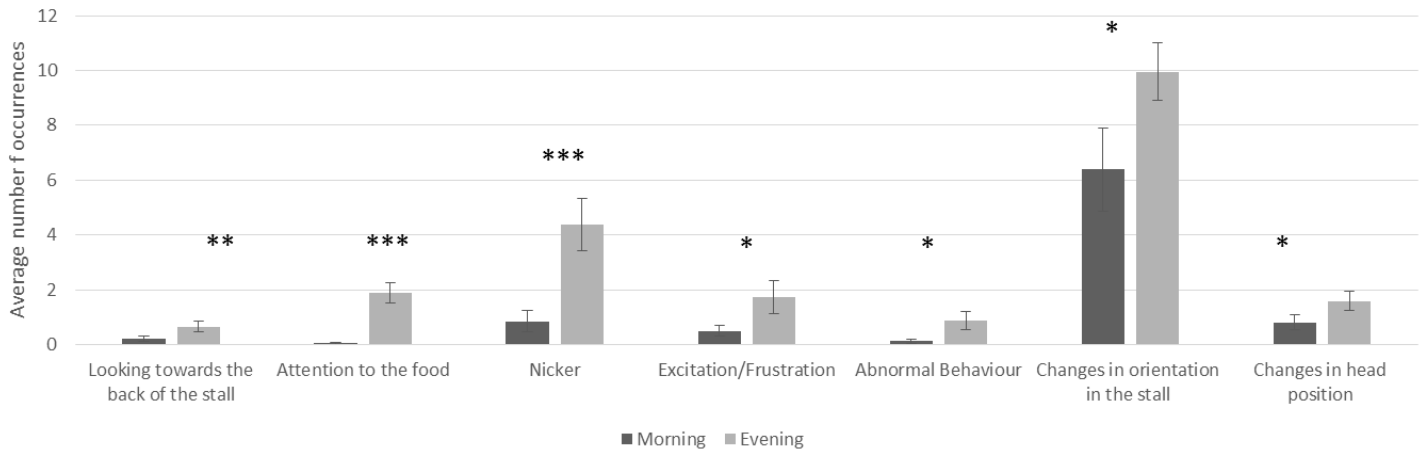


Figure 2: Number of behaviours occurrences according to the time of the day. Wilcoxon tests, T $0.05 < p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$.**

Temporal “distance” from meal

During the morning session, horses looked more towards the back of the stall (Wilcoxon test, $N=13$, $V=0$, $p=0.05$), were more attentive to the food ($V=0$, $p=0.01$), produced more nickers ($V=1.5$, $p=0.02$) and changed significantly more often of orientation in the stall ($V=0$, $p=0.001$) during the pre-meal period (*i.e.* within the 30s before feeding) than the post-signal one (*i.e.* within the 30s after the caretaker entered in the room) (Fig.3A).

Similar results were observed in the evening with again a significant increase of attention towards the food (Wilcoxon test, $N=13$, $V=0$, $p=0.005$), of nickers production ($V=3.5$, $p=0.009$) and of gazes towards the back of the stall ($V=0$, $p=0.05$) during the last 30s of anticipation compared to the first 30s after the signal appearance. But additionally, in the evening, horses exhibited more excitation behaviours ($V=1$, $p=0.03$), ears ($V=2.5$, $p=0.01$) as well as head

position changes ($V=60.5$, $p=0.01$) and tended to exhibit more abnormal behaviours ($V=0$, $p=0.05$) during the pre-meal than the post-signal period of anticipation (Fig.3B).

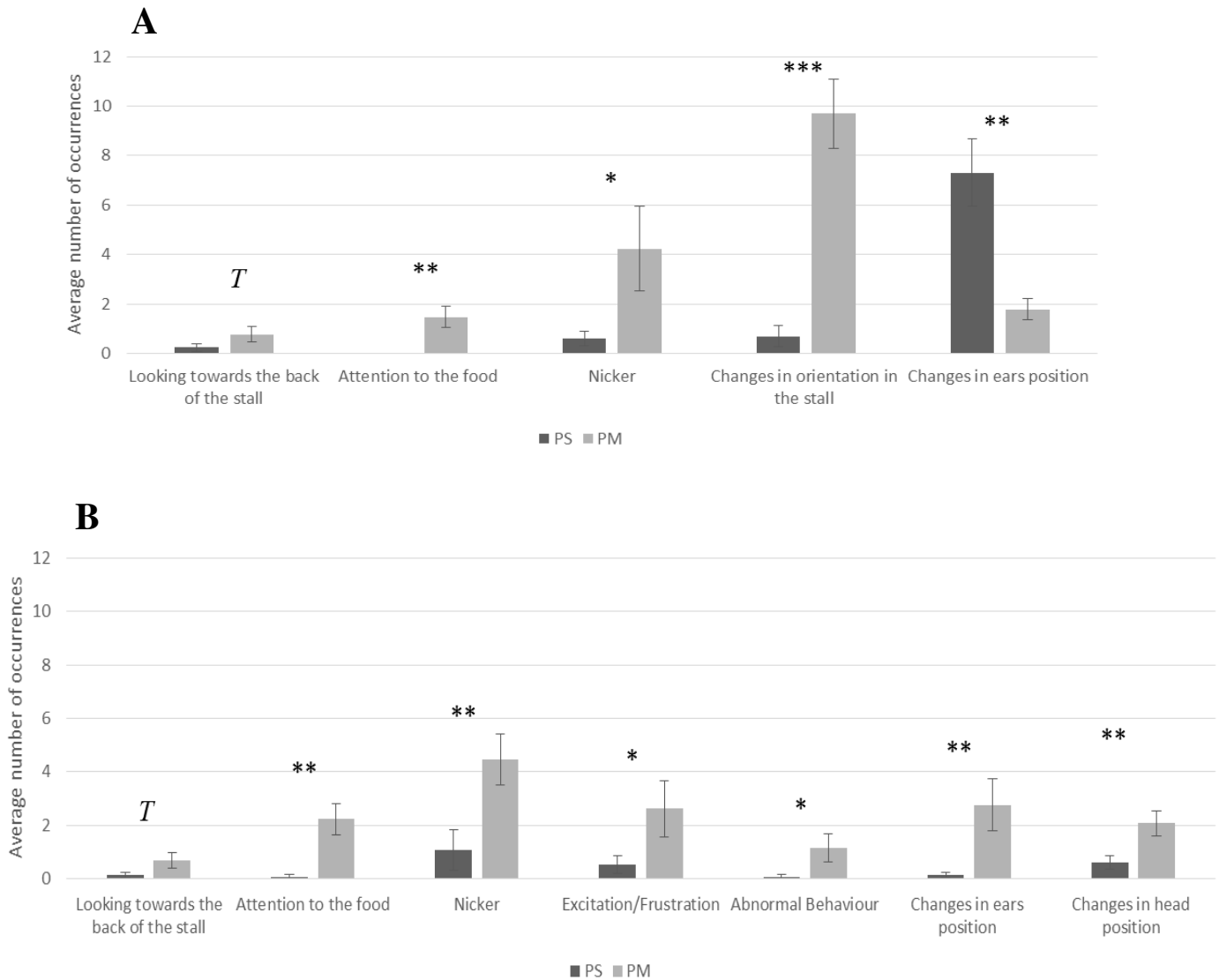


Figure 3: Number of behaviours occurrences ($X \pm se$) recorded during (A) the morning and (B) the evening according to the anticipation phase, PS=post-signal, PM=pre-meal. Wilcoxon tests, T $0.05 < p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$.**

Feeding rank

Globally in the morning, feeding rank was negatively correlated to the number of movements in the stall (Spearman correlation, $N=14$, $r=-0.52$, $p=0.05$) and the frequency of maintenance behaviours ($r=-0.63$, $p=0.01$). Furthermore, more specifically in the PS period, the higher the

feeding rank (*i.e.* the later they received food), the less time they spent with ears backwards ($r=-0.55$, $p=0.04$) and body orientation towards the wall ($r=-0.59$, $p=0.02$), and the less they exhibited ears position changes ($r=-0.57$, $p=0.03$) and stall orientation changes ($r=-0.62$, $p=0.01$).

In the evening, the latest the horses were fed, the more they explored the environment (Spearman correlation, $N=13$, $r=0.60$, $p=0.02$), spent time oriented towards the back of the stall ($r=0.53$, $p=0.04$), spent time with ears backwards ($r=0.84$, $p=0.0001$) and expressed ears position changes ($r=0.64$, $p=0.01$). Besides, during the PS period we noted that the more horses were fed late, the more they observed the corridor ($r=0.56$, $p=0.03$) and the less they ate straw ($r=-0.52$, $p=0.05$). Considering the PM period only, we saw that horses fed later spent more time oriented towards the back of the stall ($r=0.6$, $p=0.01$).

2.2 Horses’ characteristics

Age, Time spent in the facility

No sex effect was highlighted in regards to the behaviours exhibited during anticipation (Mann Whitney test, $N_{\text{gelding}}=10$, $N_{\text{mares}}=4$, $-0.7 < Z < 0.8$, $p > 0.05$).

No correlation has been found in regards to the horses’ age with the expression of anticipatory behaviours (Spearman correlations, $N=14$, $0.1 < p < 0.9$).

However, in the morning we highlighted positive correlations between the time spent in the facility and the time spent in visual attention towards the corridor (Spearman correlation, $N=14$, $r=0.62$, $p=0.01$) and the time spent with the head outside ($r=0.59$, $p=0.02$) during anticipation. In contrast we found a negative correlation between the time spent in the facility and the time spent with the head inside the stall ($r=-0.57$, $p=0.03$) during anticipation.

In the evening, there was a positive correlation between the time spent in the facility and the number of movements in stall (Spearman correlation, $N=14$, $r=0.54$, $p=0.04$).

Welfare state

There were clear relationships between the chronic welfare state and the behaviours expressed during anticipation. Thus, globally in the morning, there were positive correlations between:

-the TCSS and the prevalence of abnormal behaviours (Spearman correlation, $N=14$, $r=0.56$, $p=0.04$), the number of movements in stall ($r=0.59$, $p=0.03$) and the number of nickers produced ($r=0.6$, $p=0.02$), the time spent with ears backwards ($r=0.61$, $p=0.02$), the time spent oriented towards the back of the stall ($r=0.61$, $p=0.02$) and the number of head position changes ($r=0.63$, $p=0.02$) during anticipation.

-the frequency of stereotypic and abnormal repetitive behaviours recorded outside feeding time and the number of nickers produced ($r=0.55$, $p=0.04$), the time spent with ears backwards ($r=0.68$, $p=0.01$) and the number of head position changes ($r=0.57$, $p=0.03$) during anticipation.

-the number of aggressive behaviours during human-horse relationship tests and the number of movements in stall ($r=0.71$, $p=0.004$), the time spent oriented towards the back of the stall ($r=0.59$, $p=0.03$) during anticipation.

-the time with ears backwards in pasture and the number of abnormal repetitive behaviours ($r=0.66$, $p=0.01$), the number of movements in stall ($r=0.58$, $p=0.03$), the number of gazes towards the back of the stall ($r=0.63$, $p=0.02$) and the time spent oriented towards a wall ($r=0.67$, $p=0.01$) and towards the back of the stall ($r=0.76$, $p=0.001$) during anticipation.

Moreover, we highlighted negative correlations between:

-the frequency of stereotypic and abnormal repetitive behaviours recorded outside feeding time and the time spent with the head inside the stall ($r=-0.61$, $p=0.02$) during anticipation.

-the number of aggressive behaviours during human-horse relationship tests and the time spent eating straw ($r=-0.58$, $p=0.03$) during anticipation.

In the evening, there were positive correlations between:

-the TCSS and the number of gazes towards the back in the stall during anticipation (Spearman correlation, $N=13$, $r=0.64$, $p=0.02$).

-the time spent with ears backwards in pasture and the number of gazes towards the back of the stall ($r=0.63$, $p=0.02$) and the number of abnormal repetitive behaviours ($r=0.62$, $p=0.02$) during anticipation.

Finally, there were negative correlations between:

-the number of aggressive behaviours towards a human and the number of ears position changes during anticipation ($r=-0.57$, $p=0.04$).

-the time spent time with ears backwards in stall and the time spent eating straw during anticipation ($r=-0.55$, $p=0.04$).

CONCLUSION

In this study we showed that the time budget observed during anticipation was quite different to the usual one observed outside feeding time. Indeed, during anticipation, horses have spent around 20% of the time eating hay in the morning, even when an important portion of hay was provided, and only 11% in the evening while they have been shown to usually dedicate between 20% and 50% of time to this activity in stall (*e.g.* Rochais et al. 2018a). Moreover, we showed

that the anticipation phase was associated with the high expression of rare behaviours reflecting a negative internal state including excitement/frustration behaviours and abnormal repetitive behaviours, as already observed in different studies (*e.g.* Nicol 1999; Cooper and McGreevy 2007; Fureix et al. 2011a) and this was particularly true during the last 30 seconds before meal. Moreover, similarly to the results found in the literature, we observed that horses spent the majority of the time attentive to the corridor during anticipation (Peters et al. 2012) while they spent less time in quiet observation. Indeed, the time spent observing the environment was identical to the one usually recorded in the literature outside feeding time (*i.e.* around 21%) (*e.g.* Rochais et al. 2016a).

Moreover we found that the horses exhibited more excitement/frustration behaviours, postural changes as well as more abnormal repetitive behaviours in the evening compared to the morning. This supports the result found by Fureix et al. (2011a) who suggested that this difference could be explained by the hay availability in stall. Indeed, as in the present study, only one hay portion was provided in the morning, thus increasing the horses’ frustration in the afternoon. However, this difference could be explained as well by the time of the day and the time since the last meal. Further researches need to be conducted in order to test the real impact of hay availability on anticipatory behaviours.

If no correlation was found between anticipatory behaviours and the age of the horses, we showed however that the longer horses had been living in the facility, the more they were attentive to the corridor, head outside, and the more they moved in the stall during anticipation. This result suggests that the accumulation of anticipation bouts increased the horses’ anticipatory arousal before meals, contrary to the hypothesis suggested by Spruijt et al (2001) who proposed that the more animals are exposed to reward opportunities (*i.e.* anticipation bouts), the less they would show a vigorous behavioural responses to obtain a reward.

Finally, we showed for the first time in horses that the individuals’ welfare state was correlated to their anticipatory activity. Indeed, the more horses’ welfare state was altered, the more horses expressed typical anticipatory behaviours. This suggests that horses showing an alteration of the chronic state, due to sub optimal living conditions, were probably more prone to express frustration when exposed to food anticipation.

DISCUSSION

Jusqu’alors, une seule étude avait été conduite au sujet des comportements d’anticipation chez le cheval (Peters et al., 2012). Si des convergences avec cette étude ont pu être établies, d’autres observations issues de notre recherche en revanche divergent. Nos travaux, combinant à la fois des observations en conditions réelles et des expérimentations, nous ont permis tout d’abord de montrer que les comportements d’anticipation se mettaient en place très rapidement à la suite de l’implantation d’une routine alimentaire. Cette anticipation s’est caractérisée par une augmentation nette de l’activité locomotrice des individus, modulée par la rythmicité des repas. Effectivement, nous avons pu observer qu’une mise en place d’horaires imprédictibles de nourrissage engendrait une disparition de ce rythme calqué sur la distribution du repas. Par ailleurs, nous avons pu noter que cette modification temporelle semblait avoir un impact négatif sur les individus puisqu’une augmentation globale de l’activité en dehors des repas a pu être observée. Cependant, un retour au niveau d’activité habituel s’est opéré en deuxième semaine d’expérience, suggérant peut-être une habituation sur le plus long terme.

Ensuite, nos travaux ont permis de caractériser ces changements comportementaux exprimés lors de l’anticipation alimentaire. Ainsi, dans le contexte de l’étude, l’activité anticipatoire des chevaux était caractérisée par une augmentation de l’activité locomotrice, une attention accrue vers la source d’alimentation mais aussi des comportements d’excitation et des comportements anormaux répétés, ces derniers étant plutôt caractéristiques de la frustration que du plaisir. Il est possible que ceci soit lié pour partie aux conditions de vie appauvries, impliquant notamment une restriction des ressources alimentaires et une alimentation non continue. En effet, une augmentation des comportements d’anticipation a été remarquée lors du repas du soir, lorsque la portion de foin distribuée le matin avait déjà été consommée par les chevaux. Surtout, notre étude a permis de démontrer pour la première fois chez le cheval que les comportements

exprimés pendant l’anticipation différaient selon l’état de bien-être des individus : plus l’état de bien-être des chevaux était altéré, plus les individus exprimaient des comportements de forte excitation et des comportements anormaux.

A travers ces études, nous avons pu mettre en évidence que les chevaux montrent des capacités d’apprentissage très rapides puisque un pic d’activité locomotrice a été enregistré dans les 15 minutes précédant le nourrissage, et ce dès la première semaine de notre étude expérimentale. Si ces résultats semblent confirmer les capacités d’apprentissage associatif démontrées chez les chevaux (Cooper et al., 2005; Nicol, 2005), il est en revanche difficile ici de conclure quant à la nature des déclencheurs des comportements d’anticipation. En effet, dans notre étude les accéléromètres ayant une précision de 15 minutes et l’arrivée du soigneur ayant lieu dans les 3 minutes précédant le nourrissage, nous n’étions pas en mesure de confirmer que le début de l’anticipation soit apparu exactement à l’arrivée du soigneur. Des analyses plus précises des comportements sont actuellement en cours et nous permettront de définir si l’anticipation est réellement signalée ou plutôt temporelle. Dans le deuxième cas, des modifications comportementales devraient déjà apparaître avant l’apparition du signal.

L’état émotionnel des chevaux lors de l’anticipation d’un évènement positif, ici de la nourriture à forte appétence, s’est caractérisé par une forte excitation traduite par un pic important d’activité. Effectivement, l’activité enregistrée dans les 15 minutes précédant la distribution de concentrés était significativement différente de l’activité basale des individus hors nourrissage. Par ailleurs, nos observations en centre équestre ont mis en évidence une augmentation particulièrement importante des comportements d’excitation et de comportements anormaux répétés dans les 30 secondes précédant la distribution. De la même façon, une augmentation de la production de nickers a été observée. Ceci est d’autant plus vrai lorsque peu de foin était encore disponible dans le box. Aussi, nous avons pu noter une mobilité importante des oreilles et un grand nombre de mouvements d’entrée et de sortie de la tête entre

l’intérieur et l’extérieur du box dans cette situation. Les comportements exprimés ici reflètent plutôt des états négatifs (comportements stéréotypiques et de frustration comme le *pawing*) (Mills, 2005; Ödberg, 1973), tels que ceux déjà observés dans l’étude de Peters et al. (2012). La frustration se définit comme un état motivationnel aversif qui résulte, dans un contexte connu de récompense, de l’absence d’une récompense attendue, de sa réduction ou de son retard (Amsel, 1992). Ödberg (1978) ainsi que Fureix et al. (2011a) ont suggéré que l’émergence de stéréotypies pourrait être liée à la frustration. Le stress peut, par ailleurs, sensibiliser le système dopaminergique qui, en interaction avec le système des opioïdes, va entraîner une « exagération » des réponses comportementales face à un évènement positif et conduire à l’expression de stéréotypies (Spruijt et al., 2001; Spruijt and van den Bos, 2008; Tidey et Miczek, 1997). Ainsi, nous pouvons suggérer qu’un temps d’attente prolongé lors de la distribution de concentrés provoque un certain stress mêlé à de la frustration chez les individus en attente. Il semblerait, de ce fait, qu’un certain amalgame soit réalisé concernant l’utilisation du terme de « récompense » dans un contexte d’anticipation. Dans la plupart des études menées sur les comportements d’anticipation d’un évènement positif, la procédure expérimentale utilisée implique une durée de plusieurs minutes entre la diffusion du signal et la « récompense ». Or, une procédure de conditionnement classique consiste à délivrer une récompense à l’animal dans les premières secondes suivant l’expression du comportement attendu (*e.g.* Rochais et al., 2014; Sankey et al., 2010b). On pourrait alors penser que, si les comportements d’anticipation exprimés dans les quelques secondes suivant la diffusion du signal pourraient réellement refléter un état émotionnel positif, il se pourrait également que cet état et les comportements qui le caractérisent évoluent ensuite vers des émotions plus négatives. Une étude, testant l’impact d’un système de distribution automatique et simultanée de nourriture pour tous les chevaux, a effectivement montré que, contrairement à un système de

distribution manuelle classique, aucune augmentation des comportements stéréotypiques n’a eu lieu avant la distribution automatique (Fureix et al., 2011a).

Ainsi, on pourrait penser qu’un état de frustration dans cette situation résulte d’une part, de l’augmentation du temps d’attente de la « récompense » et d’autre part, du fait de voir d’autres congénères être servis avant soi. Au cours d’une étude testant l’impact d’une distribution plus fréquente des repas sur le comportement des chevaux, Cooper et al. (2005) ont également mis en évidence une augmentation des comportements anormaux répétés chez les individus pouvant voir leurs congénères nourris d’un repas supplémentaire, sans être eux-mêmes nourris également. Dans notre étude observationnelle, la corrélation positive établie entre le temps passé oreilles en arrière et le rang de nourrissage lors de la session d’anticipation du soir semble confirmer ce postulat. Les chevaux servis en dernier montraient par ailleurs une attention plus prononcée vers la source de la récompense et mangeaient moins de foin en période post-signal, puis passaient plus de temps orientés vers le fond du box en période de pré-repas que les chevaux servis en premier. L’orientation vers le fond du box peut être assimilée ici à un détournement de la source de stress, comme cela a déjà été observé chez des individus en stress chronique (Blois-Heulin et al., 2015; Fureix et al., 2009). Nous avons pu observer par ailleurs au cours de notre étude expérimentale que l’inversion de l’ordre de distribution a significativement impacté l’activité anticipatoire – en l’augmentant - des cinq juments habituellement servies en premières. Globalement, et ce malgré un consensus relatif dans la littérature sur l’anticipation comme reflet d’un état positif (et de bien-être) (*e.g.* Spruijt et al., 2001; van der Harst et al., 2005), nos données suggèrent qu’en réalité ces comportements apparaissent ambigus et seraient davantage synonymes d’un état émotionnel négatif.

Une certaine ambiguïté persiste en effet concernant l’analyse de cette situation d’anticipation puisque des nickers, généralement associés à des situations positives chez le cheval (*e.g.* excitation à la vue d’une jument en œstrus chez l’étalon, réunion entre une mère et son jeune,

interactions affiliatives) (chevaux domestiques : Kiley, 1972; Waring, 2003; chevaux de Przewalski : Maigrot et al., 2017), ont par ailleurs été aussi émis. Cependant, il est intéressant de noter que les nickers sont avant tout associés à la situation d’anticipation alimentaire dans la littérature, assumée positive par les auteurs sans l’avoir réellement testée (*e.g.* Maigrot et al., 2017). Par ailleurs, des observations de cette production vocale ont été réalisées également dans des contextes de frustration (*e.g.* nourriture visible mais non atteignable ; Kiley, 1972) ou de stress (*e.g.* chez une mère lors de la survenue d’un danger potentiellement menaçant pour son jeune ; Waring, 2003). Aux termes de nos travaux, ce signal acoustique apparaît alors ambigu.

Plusieurs auteurs proposent que l’intensité des comportements d’anticipation soit modulée par la fréquence des expériences positives et négatives vécues par l’individu et donc constitue un bon moyen de mesurer leur état de bien-être (Spruijt et al., 2001; Watters, 2014). Ces auteurs, considérant que les comportements d’anticipation soient eux-mêmes intrinsèquement récompensant pour l’animal, avancent qu’une exposition récurrente des individus à des épisodes d’anticipation constituerait par ailleurs un moyen de favoriser un état de bien-être (van der Harst et al., 2005; van der Harst and Spruijt, 2007; Watters, 2014). Ils supposent en effet qu’une augmentation de sensibilité à la récompense, induite par des conditions de vie sous optimales, constituerait une réponse adaptative permettant à l’organisme de remplir ses besoins et de maintenir l’équilibre entre les expériences positives et négatives (van der Harst and Spruijt, 2007). A l’inverse de ces hypothèses, nos résultats indiquent qu’une augmentation des épisodes d’anticipation (traduite par le temps passé dans l’établissement) résulte en une intensification des comportements de frustration. De plus, les nombreuses corrélations constatées entre l’état chronique de nos individus et certains comportements d’anticipation ont démontré une sensibilité graduelle des animaux à la survenue de l’évènement positif, allant crescendo avec les signes apparents de mal-être (*e.g.* score total de stress chronique). Les chevaux de notre étude vivent dans des conditions restreintes, impliquant des

restrictions spatiales, sociales et alimentaires, et font par conséquent régulièrement face à des expériences négatives. Ces conditions qui aboutissent à une altération de l’état chronique rendent les chevaux alors plus sensibles à l’exposition de stimuli positifs, tels que de la nourriture, augmentant alors leurs chances d’exprimer de la frustration à la diffusion du signal annonçant l’arrivée du repas, et l’attente qu’elle implique. Effectivement, plus les individus présentaient des signes de mal-être, plus ils avaient une activité locomotrice importante associée à de nombreux changements posturaux, plus ils produisaient de comportements anormaux, plus ils passaient du temps orientés vers le fond du box et plus ils passaient du temps les oreilles en arrière lors des sessions d’anticipation. Ces résultats supportent les observations déjà réalisées chez les dauphins, où une augmentation des comportements d’anticipation a été mesurée chez des individus pessimistes présentant des signes d’altération du bien-être (Clegg et Delfour, 2018). Ainsi, il semblerait effectivement qu’une altération de l’état de bien-être conduise à une intensification des comportements d’anticipation. Cependant, ces comportements étant davantage liés à de la frustration, nous rejetons l’idée qu’être exposé de façon régulière à des situations d’anticipation d’évènements positifs soit bénéfique pour l’animal. A l’inverse, l’accumulation de ces épisodes de frustration conduirait à accentuer le déséquilibre envers les expériences négatives traversées par l’animal.

De façon intéressante, nous avons pu observer cependant que ce lien existant entre état chronique et comportements d’anticipation était moins apparent lors de la session du soir, où moins de foin était disponible dans le box. Dans cette situation où plusieurs heures se sont écoulées depuis le précédent repas, les chevaux montrent logiquement une plus grande motivation à consommer le repas de concentrés. Il n’est donc pas étonnant que les comportements d’anticipation se soient avérés plus intenses et que, par conséquent, moins de différences puissent apparaître entre les individus, expliquant alors la moindre corrélation entre les comportements exprimés lors de cette session et l’état de bien-être. Ceci souligne

l’importance du contexte considéré lors de l’évaluation des comportements. On peut supposer, en effet, qu’ici, le niveau de motivation à ce stade de la journée soit si élevé, que l’utilisation des comportements d’anticipation dans le but de définir l’état de bien-être des chevaux ne soit peut-être pas le choix le plus judicieux. A l’inverse, une situation moins extrême pourrait permettre de révéler davantage les différences de sensibilité et donc d’affiner l’évaluation de l’état chronique. Il serait alors intéressant de pouvoir étudier cette situation d’anticipation au sein d’établissements où les conditions de vie favorisent davantage le maintien d’un état de bien-être, de par un apport continu de foin par exemple.

Des différences importantes sont apparues dans l’expression des comportements d’anticipation entre les sessions du matin et du soir. Plusieurs hypothèses se dessinent pour expliquer ce résultat. Premièrement on pourrait penser qu’une heure plus tardive dans la journée soit associée à une faim plus importante, dû au temps passé depuis le dernier repas et la dernière provision de foin. Deuxièmement, conformément aux observations réalisées par Fureix et al. (2011a), il se pourrait que l’apport de fourrage soit un facteur important concernant l’expression des comportements d’anticipation. La provision d’une quantité de foin 30 minutes avant la distribution de concentrés a effectivement permis de réduire les comportements de forte intensité, particulièrement les comportements anormaux répétés quasi inexistant dans ce cas. Les bénéfices de l’apport d’un repas riche en fibre ont déjà été démontrés chez plusieurs espèces domestiques (porcs : Brouns et al., 1994; Ramonet et al., 1999; Whittaker et al., 1998), notamment chez les ruminants (*e.g.* girafes *Giraffa camelopardalis* : Bashaw et al., 2001; Baxter et Plowman, 2001; vaches : Redbo et Nordblad, 1997), mais aussi le cheval où une diminution des comportements stéréotypiques, surtout oraux (*e.g.* tic à l’air, tic à l’appui), a été démontrée (*e.g.* Benhajali et al., 2009; 2013; McGreevy et al., 1995; McGreevy et Nicol, 1998; Willard et al., 1977). Lesimple et al. (2016) ont en effet mis en évidence que l’absence de fourrage constituait un des premiers facteurs d’émergence des comportements stéréotypiques

chez le cheval. Cet apport permet en effet de répondre au besoin d’alimentation continue et par la même occasion de diminuer l’acidité gastro-intestinale. Une étude récente a démontré les effets positifs de l’utilisation de dispositifs alimentaire (« slow-feeder ») favorisant une consommation plus lente du fourrage et permettant une diminution des comportements indésirables tels que les stéréotypies (Rochais et al., 2018a) et plus globalement une amélioration de l’état de bien-être des chevaux. Notre étude a permis de mettre en évidence que l’apport de fourrage serait un moyen de diminuer la fréquence de certains comportements liée à l’attente frustrante de nourriture. En effet, à l’inverse de ce que nous avons pu observer le soir, lors de l’anticipation du matin, plus les chevaux étaient servis tard et plus ils étaient calmes, exprimant également moins de changements posturaux et passant moins de temps les oreilles en arrière. Ainsi, lorsque du foin est mis à disposition, la frustration initialement ressentie se convertit en une simple attente.

L’ensemble de nos observations nous interroge alors sur l’idée de renforcer les possibilités d’anticipation par rythme réguliers dans la gestion quotidienne des animaux domestiques. Nos résultats semblent indiquer un effet plutôt délétère d’un environnement hautement prédictible sur les chevaux, du moins lors de la phase d’anticipation. Par ailleurs, la mise en place d’horaires imprédictibles a semblé perturber les juments puisqu’elle a supprimé le pic d’activité anticipatoire, mais a surtout entraîné une augmentation de leur activité basale. Seulement, considérant qu’un retour au niveau d’activité de base s’est opéré ensuite rapidement, une poursuite de l’expérimentation à plus long terme (*i.e.* sur plusieurs semaines au moins) serait nécessaire pour tirer de réelles conclusions. Des effets négatifs (*e.g.* augmentation du rythme cardiaque, diminution du temps passé en alimentation) dus à l’impossibilité de prédire l’arrivée d’un évènement ont déjà été évoqués (*e.g.* moutons : Greiveldinger et al., 2007). En effet, une préférence pour la prédictibilité a été démontrée grâce à des tests de choix (Badia et al., 1973; Mineka et Hendersen, 1985). Selon certaines études, une réduction de

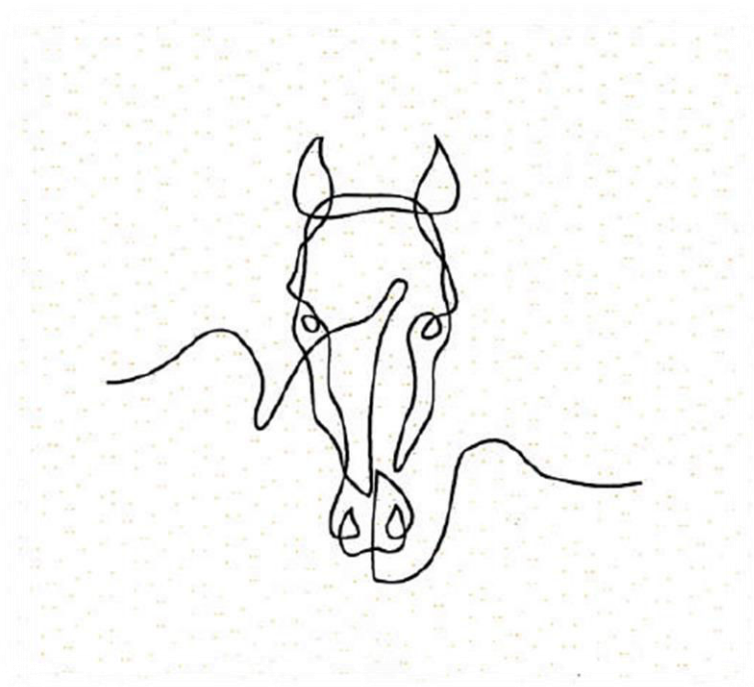
l’imprédictibilité permettrait de réduire le stress lié au sevrage chez les porcelets (Dudink et al., 2006) ou encore de réduire les épisodes d’agressions chez les truies (Carlstead, 1986). D’autres études, en revanche, prônent l’imprédictibilité comme un moyen de réduire les comportements d’anticipation, dont les stéréotypies, et par conséquent stimuler les comportements propres à l’espèce tels que la recherche de nourriture (chimpanzés : Bloomsmith et Lambeth, 1995; ours : Schneider et al., 2014; fennecs : Watters et al., 2011). Les auteurs expliquent en effet qu’une variation des horaires de nourrissage ne permet pas aux animaux de former des associations entre évènements et signaux pseudo-fiables qui, sinon, résultent en une augmentation d’anticipation de frustration. Des observations complémentaires, en dehors des périodes de pré-repas, seraient ainsi nécessaires pour étudier l’impact d’une distribution imprédictible des repas sur les activités comportementales et le budget temps des chevaux.

Par ailleurs, il est possible que, selon l’espèce considérée, l’impact de la prédictibilité de l’environnement diffère sur l’expression des comportements (van den Bos et al., 2003). L’écologie du cheval n’inclut pas d’anticipation des repas au cours d’une journée, puisqu’en conditions naturelles, un cheval s’alimente quasi en continu d’aliments riches en fibres (Boyd, 1988; Waring, 2003). Ainsi, la mise en place d’un régime alimentaire (aliments concentrés à forte valeur nutritionnelle, pauvres en fibres) et d’une distribution temporelle des repas (restreinte à 2 voire 3 repas par jour) non adaptés engendrera incontestablement un manque. Les estomacs étant vides, ceci se traduira logiquement par une augmentation de l’attente des épisodes alimentaires (Ninomiya et al., 2004; Thorne et al., 2005). Dans ce cas, au-delà d’une imprédictibilité des repas, une alimentation continue serait probablement préférable. A l’inverse, les journées des carnivores étant ponctuées de repas imprédictibles (*i.e.* capture opportuniste de proies), il semblerait qu’une augmentation de la complexité environnementale soit bénéfique aux animaux et permette de réduire les comportements anormaux (Gilbert-Norton et al., 2009; Rose et al., 2017).

Pour conclure, nos travaux indiquent que les comportements d’anticipation ne semblent pas être un indicateur fiable d’émotions positives, contrairement à la théorie proposée par Spruijt et al. (2001). Par ailleurs, l’association des comportements exprimés dans cette situation à un contexte positif remet ainsi en cause plusieurs hypothèses énoncées dans la littérature (*e.g.* nickers reflètent un état positif, Maigrot et al., 2017). Il semblerait que l’aspect temporel soit primordial dans la mesure de l’état interne des individus au cours de la phase d’anticipation. En effet, une augmentation du temps écoulé entre signal et récompense entraînerait une augmentation des comportements reflétant un état de frustration. Enfin, d’autres expérimentations menées à plus long terme s’avèrent nécessaire pour évaluer l’impact d’un environnement imprédictible sur les comportements d’anticipation et le bien-être des individus. Un apport en foin permanent semblerait être une solution pour réduire l’anticipation et potentiellement améliorer l’état de bien-être des chevaux. De futures études sont alors à prévoir pour tester cette hypothèse.

Chapitre 4

Attention et état interne



4. Attention et état interne

INTRODUCTION

Parmi les différentes composantes cognitives susceptibles d'être modulées par l'état interne de l'individu, l'attention, qui est la capacité à se focaliser sur un stimulus donné tout en filtrant les stimulations non pertinentes de l'environnement (Posner, 1980), est peut-être la plus manifeste. Ainsi, lors d'une tâche cognitive, un biais d'attention peut s'exprimer selon l'humeur du sujet testé (Mendl et al., 2009; Paul et al., 2005). Par exemple, face à une tâche de Stroop (dans laquelle le sujet doit nommer la couleur d'un mot affiché tout en ignorant sa signification), les sujets présentant un trouble de l'anxiété afficheront un traitement plus long pour les mots menaçants que des sujets contrôles (Mathews et MacLeod, 1985). Des sujets présentant des risques de dépression montreront aussi une attention sélective plus prononcée envers des expressions faciales négatives que positives (Joormann et al., 2007). De tels biais d'attention ont également été décrits chez l'animal, bien que peu d'études existent à ce jour. Par exemple, chez le mouton, les individus anxieux vont présenter un biais d'attention vers des stimuli menaçants (*e.g.* présence d'un chien) (Lee et al., 2016). De la même façon, une augmentation de la vigilance envers des cris d'alarme a été mise en évidence chez des étourneaux privés de bains d'eau, une activité hautement motivée permettant l'entretien de leur plumage (Brilot et Bateson, 2012). Si la plupart des études menées jusqu'à présent concernaient plutôt des états émotionnels négatifs, des relations ont quand même été établies entre émotions positives et attention. Une étude conduite par exemple chez des étudiants a montré un biais d'attention vers des stimuli positifs chez des sujets optimistes par rapport aux étudiants plus pessimistes (Segerstrom, 2001).

De même, de nombreux travaux montrent également que l'état chronique des individus est un facteur qui peut avoir toute son importance dans la modulation des caractéristiques

attentionnelles. Effectivement, une forte diminution voire une absence totale d'intérêt envers l'environnement, considérée comme une forme d'apathie, a été décelé chez des animaux en stress chronique (chiens : Beerda et al., 1999; truies : Broom, 1986; moutons : Fordham et al., 1991) et de façon similaire une baisse d'engagement attentionnel envers l'environnement ou vers des stimuli biologiquement pertinents a été observé chez des chevaux en mal-être (Fureix et al., 2012b; Rochais et al., 2016a, 2016b). La durée d'attention visuelle s'est révélée être une mesure utile de l'attention d'un individu portée vers un homme (Xitco et al., 2001) ou un congénère (Range et Huber, 2007), et récemment Rochais et al. (2017b) ont développé un test d'attention visuelle (VAT) permettant de mesurer les caractéristiques attentionnelles individuelles des chevaux. (*e.g.* durée totale d'attention, nombre de séquences d'attention). Cependant aucune étude n'a encore déterminé l'impact de l'état de bien-être sur ces caractéristiques.

Par ailleurs, la valence émotionnelle positive d'un stimulus ou d'une situation est connue pour moduler l'attention visuelle sélective (Raymond, 2009) ou encore la direction de l'attention (Taylor et Fragopanagos, 2005) portés par l'individu. Chez l'Homme, une amélioration des performances lors de tâches d'apprentissage a été observée par exemple lorsque que de l'argent était promis en cas de succès (Libera et Chelazzi, 2006). Chez le cheval, il a été prouvé que l'utilisation de renforcements positifs, notamment d'un aliment appétent, permet de promouvoir une plus grande attention envers l'entraîneur et la tâche demandée lors des sessions d'apprentissage, et d'améliorer en conséquence la performance des sujets (Rochais et al., 2014; Sankey et al., 2010b). De plus, comme nous avons pu le constater dans le **chapitre 1**, l'anticipation d'un évènement positif se caractérise par une attention accrue envers la source de récompense (*e.g.* agneaux : Anderson et al., 2015; dauphins : Jensen et al., 2013; gorilles : Krebs et al., 2017), notamment chez le cheval (Peters et al., 2012). Cependant, un niveau d'attention particulièrement élevé peut également apparaître en réponse à un stimulus positif

(*e.g.* excitation sexuelle lors de parade) ou négatif (*e.g.* alerte), associé à une forte intensité émotionnelle, se traduisant par des changements posturaux (*e.g.* encolure très relevée chez le cheval, Waring, 2003). Ainsi, si l'ensemble des études citées ci-dessus laissent suggérer que l'attention (quand non associée à une posture d'alerte) pourrait être un marqueur d'émotions positives chez l'animal, nous manquons encore aujourd'hui de mesures concrètes pouvant permettre notamment de distinguer attention positive d'intensité forte ou modérée.

Pour tester cette hypothèse, l'imagerie cérébrale s'impose comme une solution particulièrement pertinente puisqu'elle permet d'identifier à la fois (1) la valence d'un état émotionnel, par l'intermédiaire de l'activation différentielle de l'hémisphère droit *versus* gauche (Théorie de la valence, Davidson, 1995), et (2) son intensité via l'étude des types d'onde cérébrale produits en réponse à un stimulus. Différentes gammes d'ondes ont été effectivement identifiées selon l'état d'éveil, allant des ondes delta (0-3Hz), caractéristiques d'un sommeil profond, aux ondes gamma (>30Hz) associées à un état d'éveil élevé, en passant par thêta (3-8Hz, somnolence), alpha (8-12Hz, état de veille) et bêta (12-30Hz, éveil modéré). De nombreuses études ont déjà été menées chez l'Homme et ont permis d'associer certaines émotions à une activité électrique cérébrale spécifique (*e.g.* Mauss et Robinson, 2009; Watanuki et Kim, 2005). Une étude conduite chez le mouton, utilisant la spectroscopie proche infrarouge fonctionnelle (fNIRS), a tenté de mettre en évidence des différences d'activation selon l'attention des individus vers des stimuli à valence positive (*i.e.* vidéo de mouton) et négative (*i.e.* vidéo de chien), mais aucune différence n'a pu être observée selon la valence du stimulus lors d'un test d'attention (Raoult et Gyax, 2018). Chez le cheval, si, à ce jour, aucune étude a mesuré directement l'activité cérébrale affichée en fonction de la valence émotionnelle, deux recherches utilisant l'électroencéphalographie (EEG) ont récemment montré une interaction entre ondes cérébrales produites et latéralité hémisphérique en fonction de l'état attentionnel des individus (Cousillas et al., 2017; Rochais et al., 2018b).

En nous basant sur le test d'attention visuelle développé par Rochais et al. (2017b), et réalisée ici en présence ou non d'un humain, nous examinerons si les caractéristiques attentionnelles peuvent être impactées par l'état de bien-être des individus. En effet, il a été clairement démontré que les chevaux sont sensibles à la présence et aux signaux émis par l'Homme, et qu'ils sont capables de détecter des indices subtils tels que l'état attentionnel d'un humain (Pfungst, 1911; Proops and McComb, 2010; Sankey et al., 2011). De même, en cas d'échec face à une tâche cognitive, les chevaux peuvent se référer à l'expérimentateur présent dans leur box pour « les aider » à résoudre la tâche (Lesimple et al., 2012b; Malavasi et Huber, 2016). Aussi, pour ces différentes raisons et considérant l'effet d'audience déjà démontré chez plusieurs espèces (*e.g.* chimpanzés : Kalan et Boesch, 2015; poulets : Marler et al., 1986; chiens : Marshall-Pescini et al., 2013), nous avons décidé de réaliser le test d'attention visuelle, développé par Rochais et al. (2017b), dans deux situations différentes : la situation classique incluant la présence d'un expérimentateur diffusant le stimulus (Rochais et al., 2017b) et une situation, non testée jusqu'à présent, consistant à diffuser le stimulus de manière automatisée sur un écran et permettant ainsi de s'affranchir de la présence d'un humain durant le test (**article 3**). Puis, en nous appuyant sur le développement d'un nouvel outil au laboratoire EthoS permettant la mesure de l'activité électroencéphalographique chez des chevaux éveillés et libres de leurs mouvements (Cousillas et al., 2017), nous tenterons de caractériser ici l'activité cérébrale des animaux associée à l'attention visuelle portée vers des stimuli de différentes valences et nous nous attacherons particulièrement au traitement d'un stimulus positif (**article 4**).

Synthèse de l'article 3

Question

La technique d'électroencéphalographie (EEG) apparaît particulièrement pertinente dans une optique de mesure des émotions chez l'animal puisqu'elle permet d'identifier à la fois la valence d'une réponse comportementale, via l'étude de l'activité de l'hémisphère gauche (émotions positives) *versus* droit (émotions négatives), et son intensité, via le type d'ondes produit. Si des études ont déjà permis d'identifier un profil d'activité cérébrale lors d'une tâche d'attention visuelle chez le cheval, nous manquons encore d'informations concernant l'activité EEG produite lors d'un traitement mêlant émotions et cognition. L'activité cérébrale des chevaux attentifs à des stimuli de différentes valences a alors été ici évaluée.

Méthode

Sept chevaux ont été soumis à une tâche cognitive spatiale, après avoir auparavant appris à associer une certaine localisation (*e.g.* côté droit du manège) à un stimulus positif (*i.e.* seau rempli d'un aliment appétent), et son opposé (*e.g.* côté gauche du manège) à un stimulus négatif (*i.e.* seau rempli d'un aliment aversif). Au cours du test, composé de 5 essais (incluant les 2 positions apprises : positive (P), négative (N), et 3 positions intermédiaires nouvelles : proche positive (NP), milieu (M), proche négative (NN)), nous avons mesuré l'activité comportementale des chevaux, mais aussi leur activité cérébrale à l'aide d'un casque EEG composé de 5 électrodes. Ces mesures ont été réalisées durant 15 secondes tout au long de la phase d'anticipation des différents stimuli, c'est-à-dire de l'arrivée du cheval sur la ligne de départ jusqu'au moment où il est détaché par l'expérimentateur, avec la possibilité éventuelle d'accéder dès lors au seau.

Résultats

D'un point de vue comportemental, les chevaux ont montré une claire motivation à atteindre le seau positionné en situation Positive, contrairement au seau N. En revanche, les latences d'approche des seaux ambigus étaient semblables, quels que soit leur position. Par ailleurs, si les comportements exprimés étaient principalement des regards vers le seau ou vers l'environnement durant les premières secondes d'anticipation, un changement comportemental a eu lieu vers la sixième seconde où davantage de comportements d'excitation (*e.g.* tentatives d'avancer) ou de frustration ont été exprimés. Parallèlement, les enregistrements EEG ont montré dès la première seconde de traitement une activité significativement supérieure des ondes thêta, plus particulièrement face aux seaux ambigus, et dans une moindre mesure des ondes bêta, les ondes delta, alpha et gamma étant par ailleurs très peu présentes. La comparaison des profils EEG de la première seconde des conditions P et N ont indiqué une différence au niveau de la production des ondes thêta dans l'hémisphère gauche, clairement supérieure aux autres types d'onde face au seau P, et légèrement inférieure à la production de bêta face au seau N. Enfin, un changement clair des profils EEG a été mis en évidence entre la première et la sixième seconde de traitement, se résumant en une diminution des ondes lentes au profit des ondes rapides (particulièrement bêta) à la sixième seconde.

Conclusion

Ces résultats démontrent pour la première fois une interaction entre traitements attentionnel et émotionnel au cours d'une tâche cognitive spatiale chez le cheval. L'éveil émotionnel suscité par les différents stimuli semble avoir promu la production d'ondes thêta, reconnue pour leur implication lors de tâches cognitives, notamment spatiales, faisant appel à la mémoire de travail et la prise de décision. Son activité dans l'hémisphère gauche semble par ailleurs particulièrement associée à un état interne positif.

Manuscrit en préparation

Manuscript in preparation

EEG profiles reflect perceived valence of visual stimuli in horses

INTRODUCTION

The measure of positive emotions in animals still constitutes a current scientific challenge. While heart rate variability has been often proposed as a physiological marker of positive emotions in different species (*e.g.* pigs: Zebunke et al. 2011; ewes: Tamioso et al. 2018), some authors suggested that physiological correlates of discrete emotions are likely to be found in the brain rather than in peripheral physiological responses (Izard 2007; Panksepp 2007). But actually, even though neuroimaging studies proposed a classification of humans' emotions based on their electrical cerebral activity (*e.g.* Ko et al. 2009; Nie et al. 2011), electroencephalography (EEG) studies investigating the relationship between cerebral activation and emotions are scarce, especially in animals. On the other hand, the neurophysiological processes involved during a cognitive task have been largely studied in humans, especially in regards to those related to attention (Näätänen 1992; Corbetta and Shulman 2002; Carter and Krug 2012) and interestingly, emotions have a big part in the modulation of human attention (for a review: Taylor and Fragopanagos 2005; Vuilleumier 2005; Schupp et al. 2006). For instance, in a Stroop colour naming task people are prone to bias their attention towards threatening information (for a review: Kindt and Van Den Hout 2001). However, to date, this phenomenon has been rarely studied in animals (macaques monkeys *Macaca fuscata* : Shibasaki and Kawai 2009; Kawai et al. 2016; starlings: Belin et al. 2018) and still fewer studies explored the brain activity associated.

EEG studies have been extensively used to measure the attentional state of individuals, revealing a gradient of wave frequency bands from delta (0-3 Hz, deep sleep) to gamma (>30 Hz, high wakefulness) (Rodenbeck et al. 2006). Although theta (3-8 Hz) bands are supposed to be associated with somnolence, they have been also particularly associated with long term memory encoding (*e.g.* Klimesch 1999), working memory and learning (*e.g.* Gevins et al. 1997), as well as with cognitive tasks requiring sustained attention and an important mental

effort like mental calculation (*e.g.* Asada et al. 1999). Alpha (8-12 Hz) activity is characteristic of a resting state and in general, alpha power and brain activity are negatively related (*i.e.* a decrease in alpha power indicates an increase in brain activity). On the other hand, it is also involved in long term memory retrieval (Klimesch 1999). Finally, beta (12-30 Hz) activity is thought to be related to increased alertness and cognitive processes (Steriade 2005) and has been shown to be involved in visual attention in monkeys (Buschman and Miller 2007) and cats (Wróbel et al. 2007).

Most EEG studies exploring the emotional processes in humans focused on the relationship between frontal alpha asymmetry and emotional valence and showed a decrease of alpha activation in response to a positive or a negative stimulus, in the left or in the right hemisphere respectively (Davidson 1995; Heilman 1997). On the contrary, beta activity appears to be related to a general emotional arousal, independently of any associated valence (Sebastiani et al. 2003; Aftanas et al. 2006). Theta band on the other hand seems particularly involved in positive emotional states, in close interaction with attentional function (Aftanas and Golocheikine 2001; Sammler et al. 2007; Putman et al. 2010). However, an increase of theta activity was also observed in relation with tension and anxiety (Wyczesany et al. 2008). But, emotional processes have been more investigated in terms of hemispheric lateralisation following the frontal alpha asymmetry observed and resulted in the development of the “hemispheric valence hypothesis” (Davidson 1995) proposing that positive stimuli and approach-motivated behaviours are more prone to be processed by the left hemisphere whereas greater right-sided asymmetry would be more predictive of negative stimuli and avoidance behaviours (Davidson 1990, 1995). Increasing evidence for lateralization in nonhuman mammals, including birds (*e.g.* Symes and Perrin, 2003) and even lower vertebrates (Rogers and Andrew 2002) have been found over the last 30 years and it is assumed to confer cognitive advantages by allowing parallel and separate processing in the hemispheres (Rogers and

Andrew 2002). Indeed, Rogers (2000) and Andrew and Watkins (2002) showed a right-bias hemispheric activation for attentional, especially sustained, processes. Moreover, the right hemisphere has been proved to better process complex information in a cognitive task (Goldberg and Costa 1981).

Most studies on laterality in animals are based on indirect proof through behaviour while electrophysiological studies have proved very useful for relating attention levels significance of signals and laterality (REF). Horses have an almost complete decussation of the optic fibers (80-90% vs 50% in humans), suggesting greater chances to show hemispheric specialised responses to visual stimuli. Indeed, behavioural data have shown that they use preferentially their left eye (right hemisphere) during agonistic encounters (Austin and Rogers 2014), when facing a novel frightening object (Larose et al. 2006) or objects associated with past negative experiences (De Boyer Des Roches et al. 2008). As expected, responses to familiar whinnies involved more the right ear (left hemisphere) (Basile et al. 2009). “Neutral” attention may also elicit laterality processing: in a recent EEG study by Rochais et al. (2018b) visual attention towards a novel but non frightening visual stimulus was associated with an increase of gamma activity in the right hemisphere while “inattention” was associated with more alpha and beta waves in the left hemisphere.

Several studies have proposed behavioural indicators of positive emotions (pigs: Reimert et al. 2013; horses: Briefer et al. 2015a; Stomp et al. 2018; ewes: Tamioso et al. 2018) but none has looked at a possible brain lateralization. Moreover, positive emotions elicit an increase of attention (Rochais et al. 2014) which reflects how emotions and attention are interrelated. In the present study, we hypothesized that the visual perception of visual stimuli of different valences would lead to different types of brain activity. In order to test this hypothesis, we analyzed the EEG profiles (types of waves and lateralization) of horses confronted to positive (bucket with food), negative (bucket with aversive food), but also ambiguous stimuli.

Judgement bias tasks have shown that animals can react to ambiguous stimuli by associating them to positive, negative or intermediate valences (according to their own welfare state and the situation) (*e.g.* Harding et al. 2004; Paul et al. 2005; Burman et al. 2008a; Lökener et al. 2016; Henry et al. 2017). We used here such a procedure to see what brain profiles were associated. All horses tested here had been proved to be in an equally good welfare state (Henry et al. 2017; Stomp et al. 2018), which limited biases due to this factor.

Materials and methods

Ethical Note

The experiments were carried out in 2017 in accordance with the European Parliament and the European Union Council relative to the animals' protection used for scientific purposes directive 2010/63/UE and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree n°2013-118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under n° R. 214-87 à R.214-137). This experiment only included behavioural observations and non-invasive interactions with the horses. Thus, the experiments did not enter in the scope of application of the European directive, and consequently did not require a request for authorization to experiment, in accordance with this directive and the current French laws. Animal husbandry and care were under the management of the recreational horses' owners.

Subjects

The study was conducted on seven ($N_{\text{mares}}=3$; $N_{\text{stallions}}=3$; $N_{\text{gelding}}=1$) recreational horses in July 2017 in Brittany (France). Horses were from various ages (4 to 20 years old, $X \pm SE=10,1 \pm 6.2$) and breeds. The animals lived under naturalistic like conditions: all year long in 1-2 ha pasture

with conspecifics, fed grass and hay *ad libitum* during winter (no industrial pellets) and used for occasional outdoor relaxed leisure riding (N=5) or no ridden work (N=2).

Experimental procedure

Cognitive judgement bias test (see also Henry et al. 2017)

The procedure was based on Henry et al. (2017)'s study that proved efficient to assess the positive/negative perception of the situation by horses. In a first step, the horses were trained to associate one location, 'positive location', with food (one cup of barley) and another, 'negative location', with an unpalatable food item (barley soaked in red wine vinegar [Merkies and Carson 2011]). The palatable food/unpalatable food option has been preferred (rather than food/no food) in order to increase the positive/negative difference by making the negative location frustrating (Mendl et al. 2009). Once the horses had accurately learned the positive and the negative locations, tests were performed where an empty bucket was placed on three novel locations intermediate between the trained locations ('probes') (Fig.1). For details, see Henry et al. (2017).

The cognitive bias training and testing were performed in an arena familiar (18 m diameter) from riding lessons or training. The learning and test procedures were performed by two women (MS, SD). During a trial, the experimenter held the horse using a lead rope for 15 seconds on the starting line facing the bucket and then released it, staying quiet and immobile on its left side till the end of the trial when the horse was free to approach the bucket. The end of a trial was determined as follows: either the horse had approached and put its head into the bucket or the horse did not approach the bucket after 180 s. Latency(s) to put its nose into the bucket was recorded (from 0 to 180s).

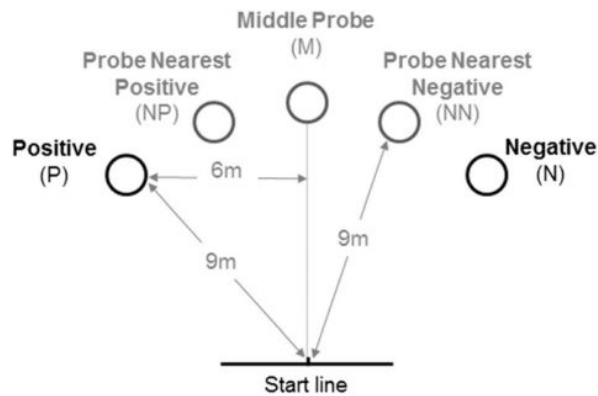


Figure 1: From Henry et al (2017). Diagram of the cognitive bias arena showing the five possible positions of the bucket: positive (P), nearest to positive (NP), middle, nearest to negative (NN) and negative (N). Positive and negative bucket positions were 12 m apart and 3 m from the edge of the area. All bucket positions, during both training and testing, were 9 m from the start position of the horse. The ordering of the locations was reversed when the right position contained the reward (N=3). The test occurred the day immediately following completion of training and included nine trials (3 P, 3N, 1N, 1M and 1NN) that were conducted in the following order P-N-NP-P-N-M-P-N-NN-P. Only one test sessions was performed so that the horses could not learn that the ambiguous locations were not rewarded (Doyle et al. 2010).

Behavioural observations

Data recording and analysis

All training and testing sessions were video-recorded using a GOPRO® (HERO3+) camera with a large angle (horizontal field view 170°). The individuals' behaviour was then analysed using a continuous focal animal sampling method (Altmann 1974), during the entire anticipation time (*i.e.* from the arrival of the horse on the starting line till its release; total duration=15 seconds) and also second by second for assessing the temporal dynamics of the

behavioural responses. Behavioural data of the horses were extracted from the video tapes of the cognitive bias test and were analysed by one experimenter (M.S). Behavioural elements were grouped in different categories (see Table x): visual attention: gazes (*i.e.* a regular visual fixation lasting at least one second) towards an element (*e.g.* the bucket, the experimenter) or monitoring behaviour (*i.e.* standing motionless, with the neck horizontal or slightly elevated, ears and neck mobile, and slowly scanning the environment by moving the head laterally); “move towards behaviours” regrouping all behaviours that express the horses’ motivation to move forwards, behaviours directed towards the experimenter; frustration behaviours (see also Rochais et al. 2018a) and maintenance behaviours (Table 1).

Table 1: Behavioural repertoire used for the behavioural coding of the anticipation phase.

Behavioural category	Behaviour	Description
Gaze	gaze towards the bucket	A regular visual fixation towards the bucket lasting at least one second.
	gaze towards the experimenter	A regular visual fixation towards the experimenter lasting at least one second.
	gaze towards another element of the environment	A regular visual fixation towards an element of the environment lasting at least one second.
Monitor the environment	monitor the environment	Standing motionless with the neck horizontal or slightly elevated, ears and neck mobile, and slowly scanning the environment by moving the head laterally.
Move towards	step forward	The horse advances a step forward.
	step on one side	The horse moves on the left or on the right of the starting line.
	pull on the rope	The horse pulls on the lead rope moving its head forward.
	push the experimenter	The horse pushes forcefully the experimenter on one side thanks to its body.
Frustration	yawn	The horse expresses yawning not followed by resting (link between yawning and stereotypic behaviours in horses in frustrating situation (Fureix et al., 2011)).
	vacuum chewing	The horse chews with nothing in the mouth (Lesimple et al., 2012).
	pawing	The horse rubs the ground with one of its forelimb.
	head shaking	The horse shakes abruptly its head from the left to the right side.
Maintenance	maintenance behaviour	Any comfort behaviour including licking, nibbling, scratching.

EEG recordings

The horses’ electrophysiological activity was recorded during the anticipation phase (*i.e.* from the arrival on the starting line to the release of the horse) using an ambulatory EEG headset (patent # R23701WO). This headset allows an easy and fast positioning of 5 electrodes on the horse’s forehead over the frontal and parietal bones (Cousillas et al. 2017). The electrodes were located on each side of the horse’s forehead allowing the recording of the differential activity

between the most occipital part of the brain and the most frontal one of the left and right hemisphere separately (Cousillas et al. 2017). The ground electrode was placed on the back of the left ear (see also Rochais et al. 2018b). The system was completed by a telemetric EEG recorder made by RF-TRACK (Cesson-Sevigne, France). The EEG amplifier based on a Texas Instruments integrated circuit ADS1294 was connected to a Bluetooth transmitter. The whole telemetric recording setup weighing 110g was fixed on the headset. The sampling rate was 250Hz. Since the recordings were telemetric, the horses were free of movements thus avoiding any bias related to the restraint usually practiced for this kind of recording.

Data Analysis

The EEG recordings were processed using a software “EEGReplay4.3” developed by RF-TRACK. Before the EEG analysis, the large artefacts due to movements (body, head, ears) were automatically removed using a smoothly Savitzky Golay function integrated in a homemade software with Python3.6.4 environment.

Once the artefacts were removed, the relative EEG power values of delta (δ : 0-4 Hz), theta (θ : 4-8 Hz), alpha (α : 8-12 Hz), beta (β : 12-30 Hz) and gamma (γ : >30 Hz) frequency bands were extracted (sampling frequency: 250Hz, *i.e.* 250 recordings for 1s). Wave percentage values were automatically calculated as the proportion of the mean power values of these 5 wave types (delta, theta, alpha, beta and gamma) both for the right and the left hemisphere independently. The signal recorded for each trial was divided in 15 seconds (*i.e.* time of the anticipation): the data of each second corresponds to the median proportion of the mean power values extracted over the 250 recordings (1s=250x0.4s). Thus we were able to analyse each second of EEG recording independently.

EEG profiles were generated based on radar plot representations. Each radius represents the median proportion of each wave in each hemisphere.

Statistical analysis

All statistics were performed with R v. 3.5.0 (The R foundation for statistical computing, <http://www.r-project.org/>). As the normality and homogeneity of variances were not respected, we run a non-parametric model analysis constructed using the {lmPerm} package. Differences in the relative EEG waves proportions were analysed by performing a permutation model testing the median proportions of different waves' frequency as dependent variables and waves' types (*i.e.* delta, theta, alpha, beta, gamma), laterality (*i.e.* left vs right) and bucket location (P, N, NP, NN, M) were specified as fixed effects and horses' ID as random factor (Good 2000). The model, based on 999 random permutations, was run ten times and the p values averages obtained for each fixed effect and their interactions were kept for the analysis.

Moreover, Wilcoxon tests were used to compare the EEG wave median proportions according to the time of anticipation (1s vs 6s) for each location.

Results

All horses learned to discriminate the positive and negative buckets in six to nine sessions. At the end of the training, horses mean latency to reach the positive location was less than 10s ($X \pm SE = 9.9 \pm 3.4s$) and the mean latency to reach the negative location was $181.7 \pm 148s$, showing that all horses had associated each location with its valence.

As expected, horses went also to the ambiguous buckets during the tests, with a slightly shorter latency for NP ($51.1 \pm 109.7s$), but overall no clear difference between locations (M: 57.4 ± 108.2 , NN: 57.4 ± 137.7 ; Friedman test, $N=7$, $F=0.53$, $p=0.76$). As expected, these horses were rather optimistic as all horses except two went to the NP, M and NN locations. These results are consistent with those obtained by Henry et al (2017) in horses living in similar conditions (*i.e.* naturalistic conditions).

Behavioural and EEG profiles during the whole anticipation

Behavioural differences appeared between the two learned locations (P and N): with mainly gazes towards the bucket and attempts to move forwards in the P situation (Friedman test, $df=8$, $X^2=22.7$, $p=0.003$) and frustration behaviours and gazes towards another element of the environment in the N condition ($X^2=19.7$, $p=0.01$). This validated our procedure as horses spent significantly more time expressing frustration behaviours in the negative than in the positive situation (Wilcoxon test, $N=7$, $Z=1.9$, $p=0.04$). Face to the NP location, horses mostly gazed at the bucket ($X^2=22.4$, $p=0.004$) but reactions to the different ambiguous locations varied since less gazes towards the bucket were recorded face to NP than in the two other locations ($Z=2.2$, $p=0.02$ in both cases). Behaviours expressed face to both the M and NN buckets tended to differ (M: $X^2=14.7$, $p=0.06$; NN: $X^2=14.2$, $p=0.07$): reaction to both locations were characterized mostly by gazes towards the bucket and another element of the environment (Fig.2).

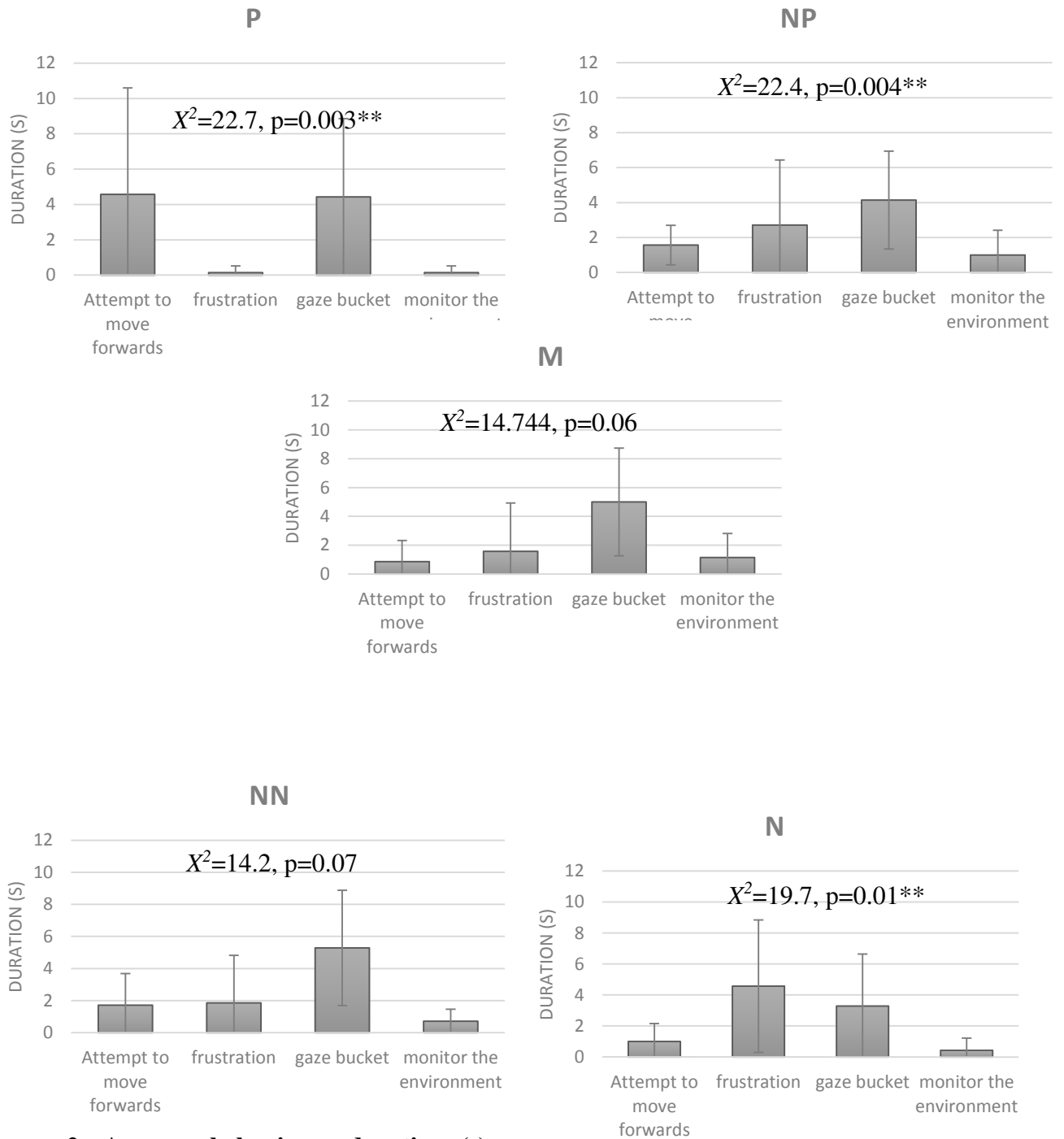


Figure 2: Average behaviours duration (s)

recorded over the entire anticipation phase according for each bucket location, Friedman test, $p \leq 0.01$.**

The EEG profiles obtained clearly differed according to bucket location ($p < 0.0001$) and there was an interaction between wave frequency, bucket location and hemisphere ($p < 0.0001$) (Fig. 3).

Overall, independently of the location, the anticipation phase were characterized in both hemispheres by a higher proportion of theta compared to the other waves ($p < 0.01$ in all cases, except in comparison to beta in the left hemisphere, $p = 0.07$) and a lower proportion of alpha ($p < 0.01$ in all cases) waves. Beta waves were also more important than delta, alpha and gamma waves ($p < 0.01$ in all cases).

Overall, the EEG profiles were very similar for the non-ambiguous stimuli (N and P) revealing a high proportion of theta waves (especially in RH for P) as well as some beta in both hemispheres (Fig.3). The profiles for the other stimuli were extremely different. The ambiguous locations were associated, for NP and NN, with an increased proportion of theta, but in the LH for NP, in the RH for NN. Opposite trends characterized beta waves: more beta in the RH for NP and more beta in LH for NN for NN. Thus the positively perceived ambiguous location corresponds to high LH theta and low RH beta. Curiously, the M location was associated with a very particular profile consisting in higher beta on both sides (Fig.3).

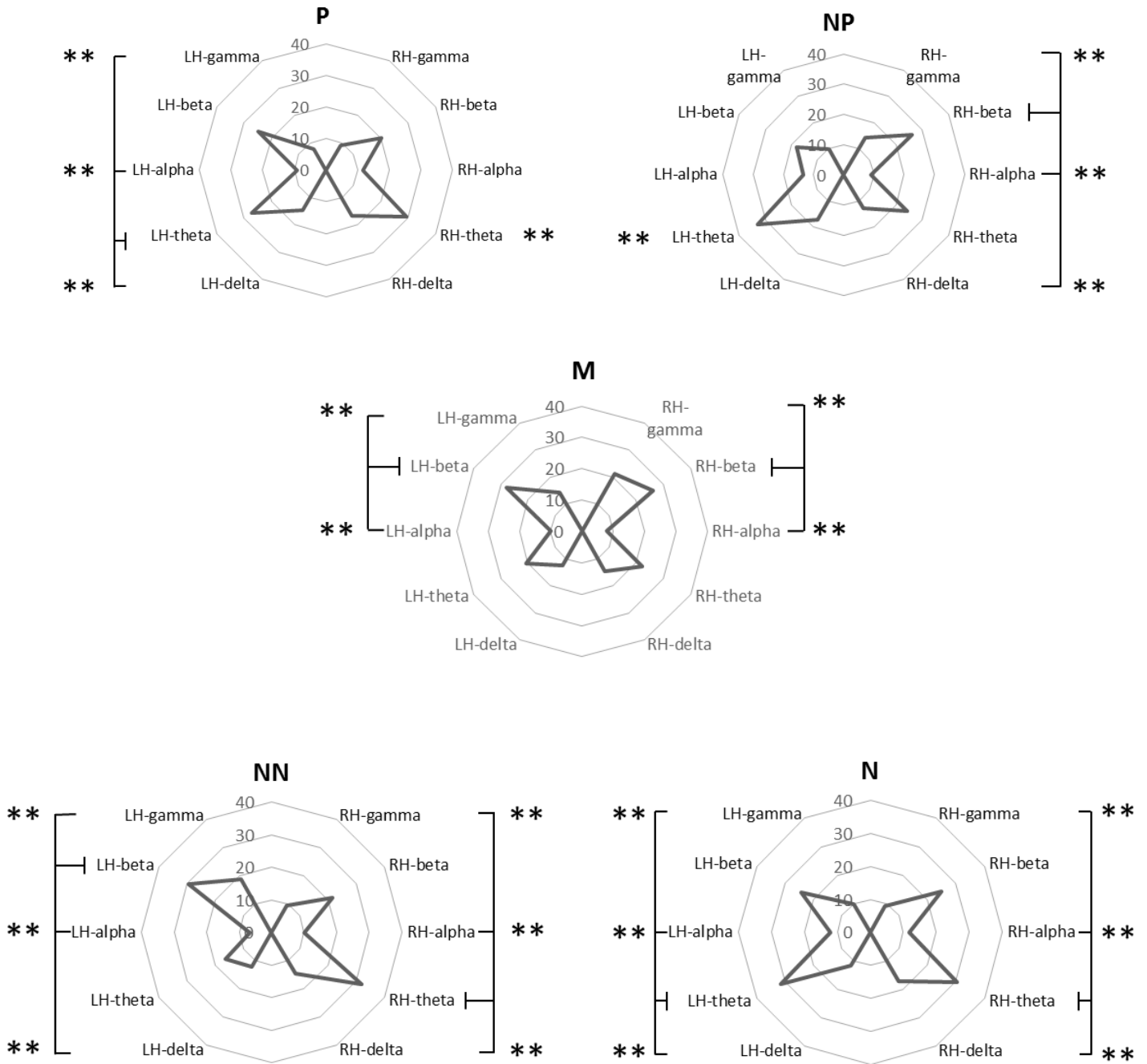


Figure 3: EEG profiles recorded on the entire anticipation phase (*i.e.* 15s) according to the bucket location, showing the median proportions according to the wave frequency in the left (LH) and the right (RH) hemispheres, permutation test, **p=0.004.

Changes in behavioural and EEG profiles over time

In the first second, following the start of test, horses mostly looked at the environment for the learned positions while they mostly gazed at the bucket for the ambiguous locations. Interestingly, the closest the location was to the N location, the more they gazed at the bucket (especially NN). No other behaviour than visual attention was observed in the first second that clearly differed from the rest of the anticipation time. A transition appeared at 6 sec (T6) where behaviours observed after T6 differed from those observed before (Cochran Q test, P: Q=26.6, $p=0.02$; N: Q=29.5, $p=0.008$; M: Q=30.3, $p=0.006$; NN: Q=25.3, $p=0.03$) (Fig.4), except for the NP location where no significant change was observed. Behavioural changes clearly differed according to location/valence of stimuli. At 6s, the P location was associated with more gazes towards the bucket, attempts to move forward, the N location with more frustration and gazes towards the environment, the NP location with frustration, the M location with a mix of frustration, gazes at the bucket and at the environment and the NN location with gazes at the environment followed by frustration. Thus the more negative the location, the more frustration and “gazes elsewhere” there were at T6 (Fig.5).

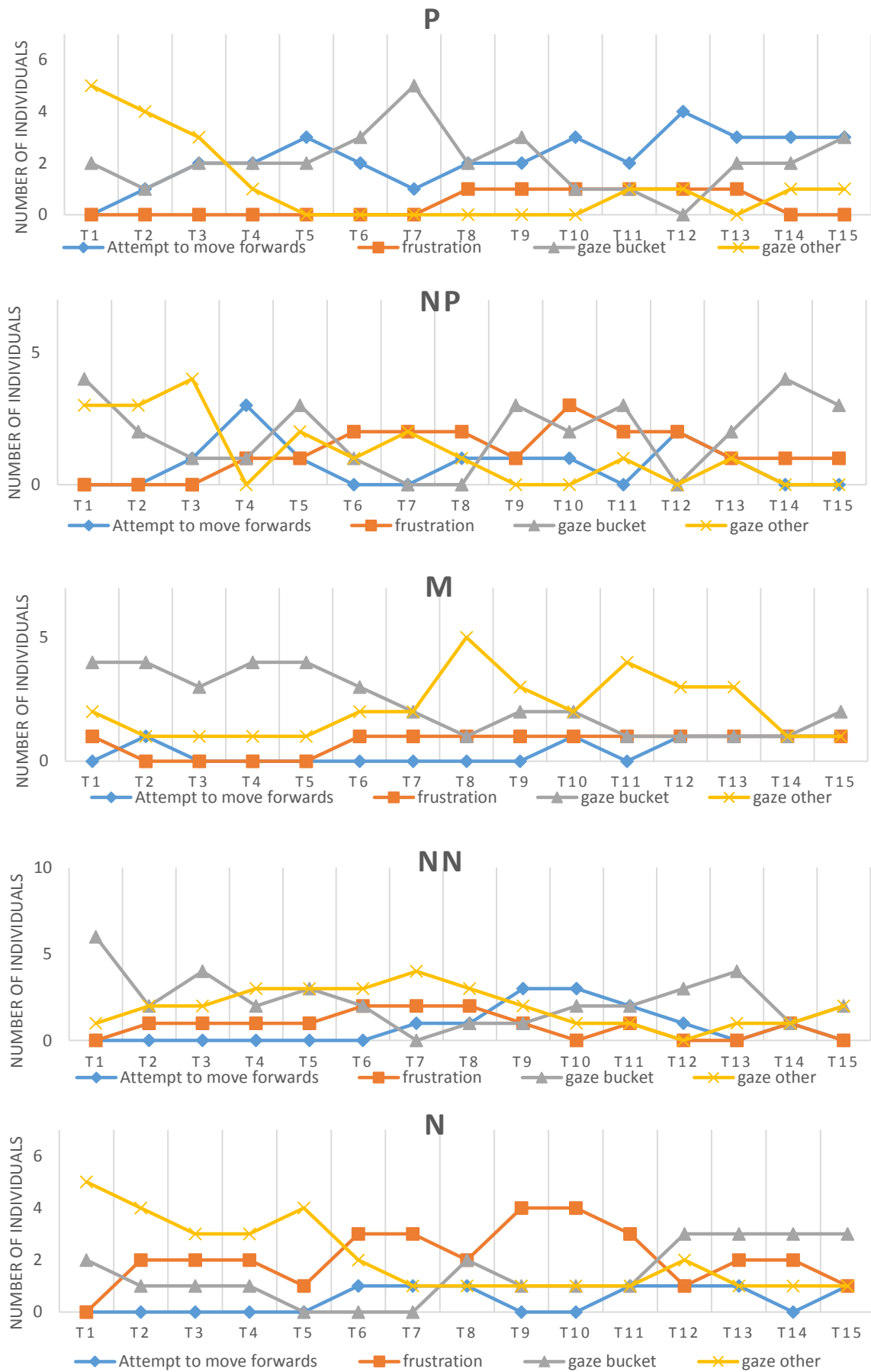


Figure 4: Number of individuals performing the behaviour according to the time of anticipation (in second).

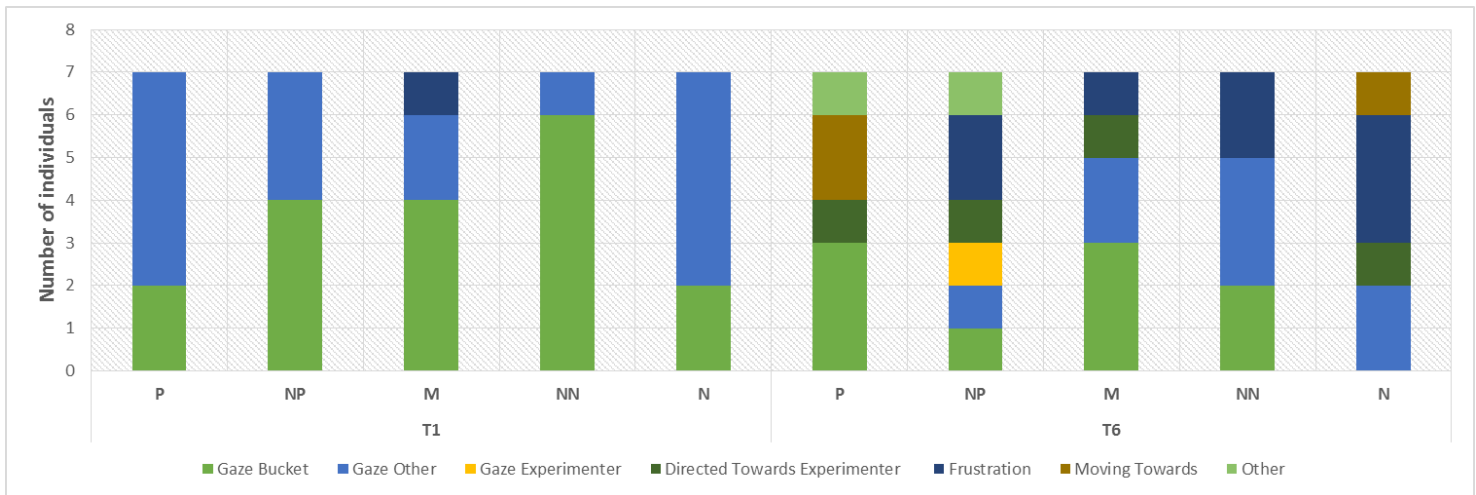


Figure 5: Number of horses involved in each behavioural activity according to the first (T1) and the sixth (T6) second of anticipation and the bucket location (P=positive, N=negative, NP=near positive, M=medium, NN=near negative).

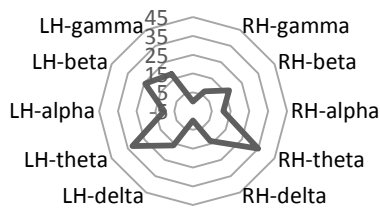
Since clear behavioural changes occurred at T1 and T6 following the stimulus presentation, we examined the EEG profiles at these precise times. At 1s, there was an activation of the LH (a high proportion of beta) and a predominance of theta in the RH for the N bucket whereas there was a predominance of theta for both hemispheres for the P location. The EEG profiles were close for the NP, with more beta and theta in both hemispheres (Fig.6). However, the profiles for the two other ambiguous locations differed strikingly with the M location characterized by more theta in the LH and beta in the RH, and the NN location characterized by a large predominance of theta in both hemispheres, particularly marked in the RH (Fig.6).

At 6s, the P location was associated with more beta in the LH and theta in the RH while the N location was associated with mostly theta and secondary beta in both hemispheres. Again, the profile for the NP bucket was close but with more beta in the RH. The profile for M differed from all others with a clear predominance of delta in both hemispheres. Finally, the NN location was the only one for which there was a clear activation (high

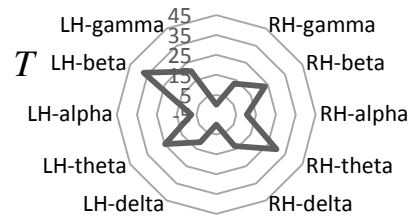
proportion of beta and gamma) without any slow wave in the LH and little in the RH. This profile was clearly opposite to that observed at T1 (Fig.6).

When comparing T1 and T6, it appears that the P location was associated with more beta in the RH at T6 (Wilcoxon test, $N=6$, $Z=2$, $p=0.04$) and the N one with no hemisphere difference anymore at T6 for beta and theta, which means less beta and more theta in the LH at this time even if no significant differences were found. The M location showed on the contrary changes in the RH with more delta ($Z=2.2$, $p=0.02$). While the changes were moderate for the NP location (not significant increase of beta in the RH), there were large changes in both hemispheres for the NN bucket: beta and gamma waves increased mostly in the LH whereas theta waves disappeared in the LH, although the difference was not significant, and diminished in the RH ($Z=2.2$, $p=0.02$); while at T1, slow waves largely predominated, at T6 there was a clear activation of fast waves, especially in the LH.

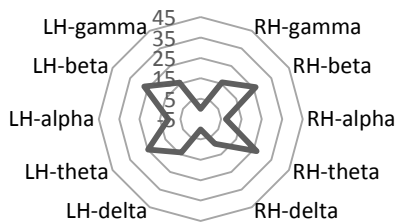
P T1



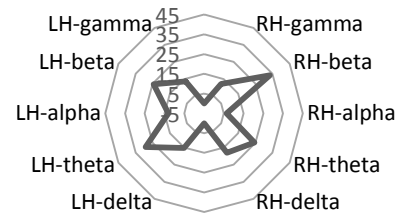
P T6



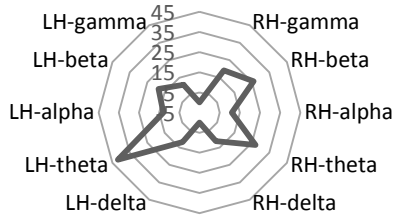
NP T1



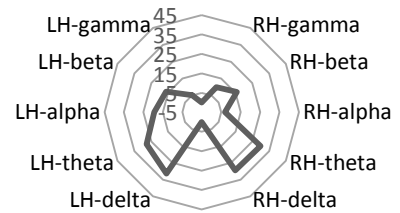
NP T6



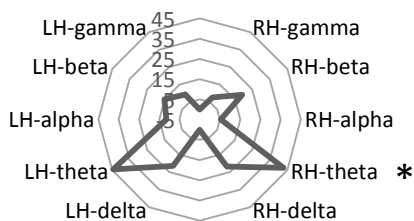
M T1



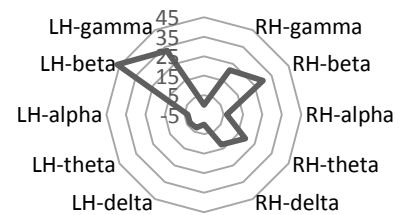
M T6



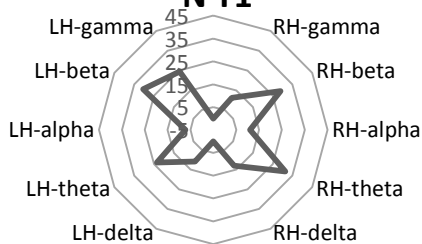
NN T1



NNT6



N T1



N T6

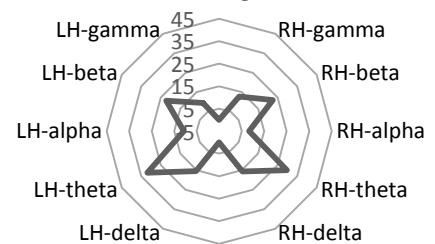


Figure 6: EEG profiles recorded on the first (T1) and the sixth (T6) second of anticipation according to the bucket location. They show the median proportions according to the wave frequency in the left (LH) and the right (RH) hemispheres, Friedman tests, * $p < 0.05$; $T 0.05 \leq p \leq 0.1$.

DISCUSSION

This study is the first to our knowledge to characterize EEG profiles when animals are facing visual stimuli associated with different emotional valences. Behavioural observations confirmed that ambiguous stimuli elicited different reactions according to their closeness to clear positive or negative stimuli. Theta and beta waves predominated during the anticipation phase. Overall an inter-hemispheric axis appeared with more theta on one side and more beta on the other side for the ambiguous stimuli with an inversion between the near positive (left theta predominance) versus near negative (right theta predominance) locations. When the stimuli were unambiguous, theta and beta were predominant in both hemispheres. On the other hand, the most ambiguous location elicited more beta in both hemispheres. There was then a gradient of laterality from known outcomes (P, N), totally random outcome to almost expected outcomes; always involving beta and theta. Little laterality was also observed at T1s, with again theta and beta involved. One remarkable feature was for the NN stimulus which elicited almost only theta waves in both hemispheres at first sight. This seems to reflect the high visual attention towards the bucket for this stimulus, confirming the implication of theta waves in sustained attention. When horses clearly changed behaviour according to the stimulus (at T6s), the EEG profiles differed clearly. One striking feature is that both P and most of all NN locations elicited more beta on the left hemisphere. At this “decision point”, EEG profiles clearly differed and characterized each type of stimulus.

In this study, horses were exposed to a cognitive spatial task including both learned and ambiguous cues associated with different valences. Our findings suggest that ambiguity promoted theta waves production at the expense of the others and confirm the role of this wave frequency band in complex cognitive processes requiring a sustained attention in humans (Asada et al. 1999). During a trial, when the horse discover the bucket position, he needs to rely on its working memory to compare it to those he has previously learned. Our findings are thus in accordance with the involvement of theta in working memory and learning in humans (Gevins et al. 1997; Jensen and Tesche 2002; Onton et al. 2005). In the latter studies, authors found an increase of theta activity with the task difficulty, reflecting enhanced attention. Moreover a particular activity of theta has been observed for spatial working memory and the decision-making network in rats (Jones and Wilson 2005). Interestingly, our findings differed from those obtained by Rochais et al. (2018b) where horses' brain activity was recorded during a visual attention test and a significant increase of gamma waves was observed with attention in the right hemisphere. The absence of gamma waves' predominance in our task could be explained by the nature of the tasks applied since the visual attention test does not require spatial working memory but only visual attention. However, the emotional valence associated with the stimuli used seems to be the most remarkable difference existing between the two studies. In the case of Rochais et al. (2018b), the stimulus used (a pointer laser) was neutral for horses whereas the different locations of our experimental design triggered positive or negative emotional states. Indeed, in a study investigating the electrophysiological correlates of music and emotions, Sammler et al. (2007) suggested that theta activity probably required an increase of emotional arousal to occur. Thus, our results underline the effect of emotion and motivation on attention. In the situation where the stimulus does not provoke any particular motivation from the animal, attention would be associated with a simple increase of arousal, as reflected by the gamma activity. On the contrary, when the stimulus triggers positive emotion and hence increases motivation, animals will show more interest and then a more sustained attention to it,

as revealed by the production of theta. This was confirmed also by the EEG profiles observed on the first second of stimulus processing where a higher theta waves activity was recorded for the P stimulus in the left hemisphere, whereas that was not the case for the N one. Furthermore this result seems consistent with the hemispheric valence hypothesis suggesting a left-bias for the positive stimuli and approach-motivated behaviours (Davidson 1995) and reminds the implication of theta waves for positive emotions already suggested in humans. Indeed, an increase of theta activity has been recorded during pleasant music (Sammler et al. 2007) and “blissful” positive states reached during meditation (Aftanas and Golocheikine 2001). In this way, the theta power activity observed in the left hemisphere appear particularly promising in regards to the assessment of positive emotions in animals.

Interestingly, the findings showed on the other hand that the EEG profile expressed in the first second of the positive stimuli did not last all along the anticipation phase. Indeed, whatever the stimuli considered, both the horses’ cerebral and behavioural activities clearly evolved from the first to the sixth second of anticipation suggesting a high importance of the temporality when considering the emotional state during anticipation. Indeed a behavioural shift was observed at 6s of anticipation that could assimilated to “the decision point”: gazes towards an object (especially the bucket) left room to more active behaviours for all the locations, suggesting a change in arousal and valence of the horses’ internal state over the anticipation phase. The most interesting thing is that simultaneously, large changes were noticed as well according to the time when considering the EEG recordings. Globally, slow waves decreased whereas fast waves (especially beta) increased, except for the more ambiguous location (M) where a significant increase of delta occurred in both hemispheres. Indeed, an increase of delta wave activity is known to be related to decision-taking processes in humans (Başar et al. 2001). We can therefore easily suggest that the high level of ambiguity associated with this condition necessitated a longer processing related to decision-making, superior to 6s. Concerning the other locations, the apparition of higher arousal behaviours associated with an increase of beta

activity confirmed the correlation between beta activity and emotional arousal increase, whatever the valence associated (Aftanas et al. 2006). Furthermore, this findings call into question the emotional valence connected to anticipatory behaviours. Here we showed that the horses' cerebral activity clearly evolved over the positive event anticipation. Moreover, we noted that the EEG profiles recorded over the entire anticipation phase (*i.e.* 15s) for the positive and the negative locations were really similar, characterized by high proportions of theta and beta power in both hemispheres. In this way, behaviours expressed before the arrival of a positive event have to be considered with caution. Actually when individuals have to wait for few seconds to reach the desire outcome, how it was the case with our procedure, it seems that there is a thin line between positive internal state and frustration.

This paper is the first evidence of electrophysiological correlates of the interconnected processes of attention and emotions in awake horses. The increase of theta activity observed here, particularly in the left hemisphere for the positive stimulus, first confirms its major role in sustained attention processes and additionally constitutes a new evidence that positive emotions may stimulate attention. Then this result underlines the importance of promoting a positive environment for learning in animals. Finally, given the left bias observed at the decision point for the NN location in our horses, then suggesting a positive perception of the ambiguous situation by the horses, it would be interesting to conduct a similar experiment with horses in a challenging welfare state. More pessimistic horses should show a right bias in the same situation. In this way, this study constitutes a promising track in the search for physiological indicators of positive emotional state in horses.

Synthèse de l'article 4

Question

Les conditions de vie domestique impliquent des restrictions pouvant induire non seulement une dégradation de l'état de bien-être mais aussi une altération des capacités cognitives. A ce titre, les caractéristiques attentionnelles semblent particulièrement informatives de l'état chronique d'un individu. Par ailleurs, nous savons que les chevaux sont capables de percevoir des signaux subtils chez l'humain à tel point que cela peut même parfois biaiser les résultats obtenus lors d'une tâche cognitive ou conduire les individus à devenir dépendants de l'homme dans la résolution de cette tâche. On parle d'effet d'audience. Aussi, dans cette étude, nous avons examiné si les caractéristiques attentionnelles mesurées lors d'un test d'attention visuelle sont impactées par la présence de l'homme (par rapport à un test réalisé sans présence humaine) et si ces dernières pouvaient refléter l'état chronique des individus.

Méthode

Neufs chevaux de centre équestre ont été soumis à un test d'attention visuelle consistant en la diffusion d'un stimulus visuel (laser) sur la porte du box du cheval par un expérimentateur (présence humaine), et à un second test d'attention visuelle réalisée sans présence humaine dans lequel un stimulus identique était diffusé sur un écran fixé sur la porte du box de l'individu. Les différentes caractéristiques d'attention (temps de réaction, durée totale des regards, nombre et durée moyenne des séquences d'attention, indice de fragmentation), à la fois globale (*i.e.* ensemble des regards portés vers le stimulus) et fixe (*i.e.* attention soutenue), ont été comparées entre les deux situations (avec ou sans présence humaine), et mis en lien avec des mesures de bien-être réalisées en dehors des tests.

Résultats

Un effet d'audience a été mis en avant lors du test d'attention visuelle réalisée en présence humaine : les chevaux ont montré des séquences d'attention fixe plus longues que lors du test réalisé sans présence de l'homme et les variations inter-individuelles étaient également moins importantes. Par ailleurs, de façon très intéressante, les résultats indiquent que les paramètres de bien-être étaient corrélés uniquement avec les mesures attentionnelles obtenues lors du test conduit sans expérimentateur : les chevaux ayant un état de bien-être moins altéré présentaient une attention plus fragmentée.

Conclusions

Cette étude constitue tout d'abord une nouvelle preuve de l'impact de l'état de bien-être sur les caractéristiques attentionnelles des chevaux. Les séquences d'attention fixe anormalement longues trouvées chez les chevaux présentant des signaux clairs de mal-être (stéréotypies, alimentation oreilles en arrière) semblent en effet être le reflet d'un trouble attentionnel, déjà démontré chez des chevaux présentant des symptômes de dépression. Par ailleurs, ces résultats soulignent l'effet majeur de la présence d'un expérimentateur sur les capacités cognitives des chevaux. Le travail quotidien des chevaux avec l'homme semblerait de fait moduler les capacités cognitives de l'animal sans doute conditionné à montrer un niveau d'attention soutenu en présence humaine. Les deux types de test d'attention visuelle apparaissent alors complémentaires : le test classique constitue un bon moyen de mesurer les capacités attentionnelles d'un cheval au travail, alors que le test réalisé sans humain apparaît être un outil novateur de mesure de l'état de bien-être de l'animal.

Manuscrit soumis pour publication dans *Animal cognition*

*Manuscript submitted to *Animal Cognition**

**Effects of human audience and welfare state on
horses' visual attentional characteristics**

ABSTRACT

Humans through their management choices of living conditions (*e.g.* food, accommodation) and continual presence and actions can alter domestic horses' welfare state and shape their representation of their environment, inducing undeniable consequences for animals' cognitive abilities. Animals suffering poor welfare can present a lower attentional engagement. Horses are able to detect subtle human cues resulting sometimes in a 'clever Hans effect'. Thus, we hypothesized that the presence of a human during a visual attention test (VAT), developed to estimate individual horses' attentional characteristics, could interfere with the results and hence misrepresent a horse's intrinsic attentional characteristics. Therefore, the same horses (N=9), living in restricted conditions, were presented VAT in two different contexts: first using a human-directed laser pointer ('human VAT'), then by presenting the stimulus on a screen in the absence of humans ('human-less VAT'). Horses' welfare state was assessed at outside test times. Our findings show a clear "audience effect": the horses' paid more attention to the visual stimulus and inter-individual variations were smaller when a human was present than when nobody was there. The attentional performance scores for tests in the absence of humans were correlated with their welfare state: the attention of horses in a better state was more fragmented. This study underlines the impact of a human audience on domestic animals' attentional engagement in their (non-human) environment and moreover confirms the link between welfare and cognitive abilities.

INTRODUCTION

Domestic animals encounter particular living conditions that can impact their welfare (*e.g.* Broom 1991; Latham and Mason 2008; Benhajali et al. 2008; Visser et al. 2008; Broom and Fraser 2015), but they also are surrounded by humans who can shape their representation of their environment (Hemsworth and Coleman 1998; Henry et al. 2006; Fureix et al. 2009; Sankey et al. 2011). Both aspects are related to animals' cognitive abilities. On one hand their welfare state may induce cognitive biases, including judgement, memory or attention biases (Paul et al. 2005; Mendl et al. 2010). For instance, animals that live in conditions that promote the expression of positive emotions can show an optimistic judgement bias (*e.g.* rats: Rygula et al. 2012; sheep: Doyle et al. 2010; pigs: Douglas et al. 2012; horses: Henry et al. 2017). On the other hand, animals are very sensitive to human cues (*e.g.* dogs: Gácsi et al. 2004, Kaminski et al. 2017; horses: Proops and McComb 2010; non-human primates: Botting et al. 2011; Maille et al. 2012; pigs: Nawroth et al. 2015, goats: 2016b) so that may sometimes end in a 'clever Hans effect' (*e.g.* dogs: Miklósi et al. 1998; baboons: Vick and Anderson 2003). The famous case of clever Hans is a perfect illustration the effects of human interference on an animal's performance: the animal (*i.e.* a horse in this case) was able to use subtle human cues to perform a task efficiently and predict what response would maximize its chances of obtaining a food reward, despite not actually learning any specific rules (Pfungst 1911). Moreover, while it is generally admitted that experience with humans, and potentially domestication, triggers domestic animals' cognitive abilities (Miklósi et al. 2003; Udell et al. 2008; Savalli et al. 2014), they may become dependent on humans to solve problems (*e.g.* dogs: Topál et al. 1997; Jakovcevic et al. 2012, D'Aniello et al. 2015; horses: Lesimple et al. 2012, Malavasi and Huber 2016; goats: Nawroth et al. 2016). Therefore, the composition of an audience (*e.g.* conspecifics, humans), when evaluating animals' cognitive abilities is an element not to be neglected, as has been shown for humans (*e.g.* Allen et al. 1991; Wolf et al. 2015). Indeed, an audience effect, that arises when a subject's behaviour changes because of the mere presence of another

individual (either of the same or of a different species), has been reported for non-human primates (Hoogland 1983; Seyfarth and Cheney 1985; Slocombe et al. 2010; Schel et al. 2013; Kalan and Boesch 2015), and other animal species (chicken: Marler et al. 1986; zebra finches: Vignal et al. 2004; ravens: Szapl et al. 2018; grey squirrels: Leaver et al. 2006) including domestic animals (dogs: Virányi et al. 2006; Marshall-Pescini et al. 2013).

Recently, authors reported that horses in a poor welfare state showed less attentional engagement with their environment (Rochais et al. 2016a) and less interest in environmental stimuli (Fureix et al. 2012b; Rochais et al. 2016b). Apathetic profiles are regularly described for horses (*e.g.* Pritchard et al. 2005; Hall et al. 2008; Burn et al. 2010; Fureix et al. 2012b; Popescu and Diugan 2013) and other domestic (Broom 1986; Fordham et al. 1991; Jensen et al. 1996; Beerda et al. 1999), laboratory (*e.g.* Pais-Vieira et al. 2009) or captive (*e.g.* Camus et al. 2013) animals (review in Fureix and Meagher 2015).

Attention, defined as the ability to process selectively one aspect of the environment over others (Posner et al. 1980) is a core aspect of cognition. It involves multiple processes by which the nervous system organizes sensory inputs and generates coordinated behaviour (Bushnell 1998). Animals' attention can be modulated by human actions (Mendl et al. 2009; Sankey et al. 2010b, c; Rochais et al. 2014; Tallet et al. 2018) and animals' ability to detect human cues may influence the results of studies on cognition (Pfungst 1911; Miklösi et al. 1998). This may be particularly true for horses that have an individualized and working relationship with humans. For instance, reports point out that temperament tests performed in the presence of humans may be more predictive of behaviour at work than human-less tests (Le Scolan et al. 1997; von Borstel et al. 2011). In addition, the horses' attention to a human trainer in a learning task can be enhanced more or less depending on the reinforcement used (Rochais et al. 2014).

Recently, Rochais et al. (2017) developed a visual attention test (VAT) for horses based on the display of a visual stimulus by an experimenter inside a horse's home stall. This test showed an

individual's attentional characteristics remained relatively stable over time. Given the above mentioned studies, we questioned whether an individual's attentional characteristics revealed through this VAT were modulated by the experimenter's presence. If so, and considering the key role played by humans in horses' lives, we would expect that the presence of a human would influence the horse's attentional characteristics and hence alter the potential relationship between the intrinsic factors (*e.g.* welfare state) of the animal and these characteristics.

This study tested this hypothesis by evaluating the same horses as Rochais et al. (2017) in the same VAT conducted either with a human-directed laser pointer or by presenting the same visual stimulus on a screen in the absence of a human. We compared horses' attentional characteristics between these two contexts and according to their welfare state assessed outside tests. We hypothesized that the horses' attention structure to the stimuli would be more sustained in the presence of a human. Hence, we predicted that the attentional characteristics evaluated in the absence of a human would reflect a horse' welfare state better in the presence of a human.

MATERIAL AND METHODS

Ethical note

The study was carried out in 2016 in accordance with the European Parliament and the European Union Council directive 2010/63/UE relative to the protection of animals used for scientific purposes and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree n°2013-118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under n° R. 214-87 à R.214-137). As our study only involved observations it did not require any further ethical authorization. The private owner of the riding school allowed us to conduct this research on his site. Animal husbandry and care were under the management of the riding school staff.

Subjects and management conditions

Our subjects were nine 8 to 15 years old ($X \pm SE = 11.3 \pm 2.2$) horses (6 geldings and 3 mares) of various breeds (3 Thoroughbreds, 3 French Saddlebreds, 2 French Saddlebred and 1 Welsh Pony) living in a same French riding school in Brittany. All the animals observed had been living under the same conditions for at least one year, but the total time spent in the facility varied among horses (from 1 to 7 years, $X \pm SE = 4.3 \pm 1.9$ years). Horses were kept in a barn, in straw bedded 3.40m x 3.30m individual stalls, with door openings and full walls that do not allow visual contact with neighbours. They were fed industrial pellets twice a day (at 9:30am and 6:00pm) and hay (6-7kg) once a day (at 9:00am). All horses were in paddocks (with grass) every day in groups for 1-4 hours each day. They also worked in riding lessons (including being ridden by riders from beginners to experienced riders) for 4–12 hours per week. They were ridden English style (see also (Lesimple et al. 2010, 2016)).

Experimental procedures

1) “Classical Visual Attention Test”: human presence

We conducted the visual attention test (VAT) developed by Rochais et al. (2017) in the subject's home stall using the green light ($\varnothing 1\text{cm}$) of a laser pointer (Laser point, PEARL®).

In accordance with Rochais et al. (2017)'s study, the experimenter (M.S) entered the stall and positioned herself to the left of the horse facing the stall door. Then, in order to habituate the animal to her presence in the stall, she stood motionless, arms alongside her body, gazing at the floor for two minutes. Once the habituation time was finished and as soon as the horse directed its head towards the stall door, the test began and lasted five minutes (*i.e.* 300s). The stimulus was a specific continuous circular movement (*i.e.* 30cm long vertical and horizontal movements, following a predetermined order (Fig.1)) on the stall door (1m from the horse,

1.20m above ground). The horse was free to move inside the stall during the test. Horses were tested between 6am and 8:30am, *i.e.* a quiet period when noise and/or disturbance were limited (no working activity, no people about) to avoid any intrusion susceptible of mobilizing horses' attention.

The VAT was performed only once as habituation to the test occurs rapidly (Rochais et al. 2018b). Moreover, from a practical point of view, considering that the ultimate goal of the VAT is to allow users to assess their horses' attention easily in the field, we wanted to compare the effects of the different procedures (*e.g.* presence or not of an experimenter) to the attentional data obtained previously.

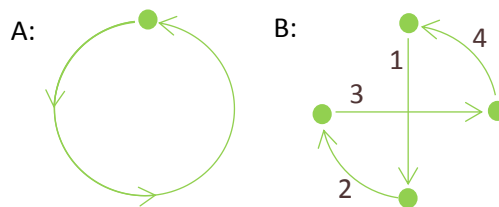


Figure 1: Stimulus trajectory, broken down in two parts (A followed by B), adapted from Rochais et al. (2017).

2) Human-less Visual Attention Test

After being submitted to the human VAT, the same horses were tested again after at least one month. The attentional abilities of the same horses were estimated again but this time in the absence of an experimenter to avoid potential effects of human presence (audience effect) on the horses' attention behaviour. A 19" (41x26cm) LCD screen (Hyundai® X93Wd) was fixated in the middle part of the horse's home stall door (1.20m above the ground) (Fig. 2B). The screen was connected to a computer (DELL® Inspiron mini10) placed outside the stall (*i.e.* 2m from the stall) from which a second experimenter (A.H) (no visible by the horse) triggered the stimulus (a moving green dot, Ø1cm, its brightness and wavelength were similar to those of the

laser pointer). This stimulus was a recorded pattern for which both the trajectory and velocity were identical to those used for the “human” condition.

In order to avoid any bias due to the novelty of the screen inside the stall, 5 days elapsed before a test for habituation. Tests were conducted during the quiet hours, *i.e.* between 12:00am and 14:00pm. The screen was fixed on the stall door but no image was displayed (*i.e.* the screen was black, switched off) and was removed only when the horse no longer showed any interest in it (*i.e.* gaze, exploration with the nose) (mean time required: $X=5.1\pm 5.7$ min; maximum: 20 min).

On test day, after (at least) 2 minutes of habituation to the black screen (switched on) and as soon as the horse directed its head towards the stall door (when they looked at the stall door for the first time they were 1 to 2m from it), the experimenter triggered the stimulus which lasted 5 min (*i.e.* 300s). The horses were tested only once and on the same day, following the same order and during the same period of the day (between 6:00 am and 8:30am) as for the previous experiment.

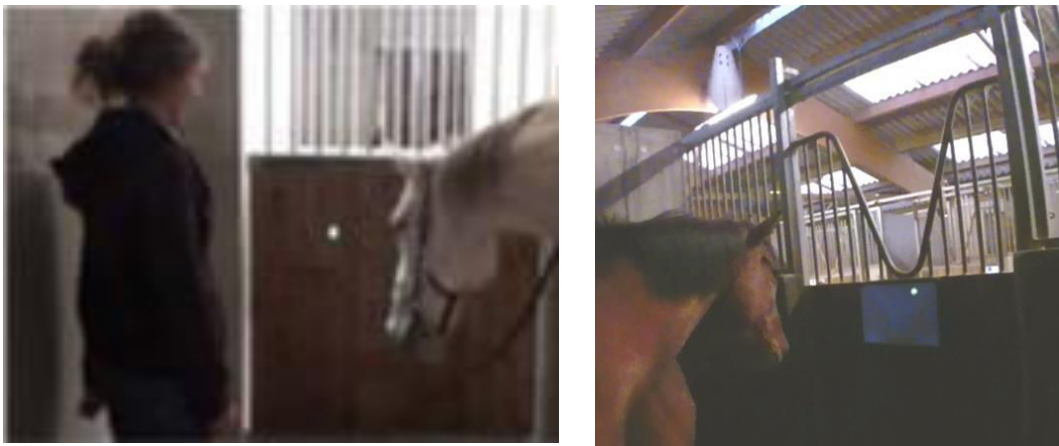


Figure 2: The two the visual attention test contexts: (A) in the presence of a human (from Rochais et al. [2017]), (B) in the absence of a human (use of a screen).

Data recording and analysis (see also Rochais et al. 2017)

The tests were videotaped using a GOPRO® (HERO3+) camera with a large angle (horizontal field view 170°). The camera was fixed on one side wall of the stall (depending on stall configuration, but allowing a global view of the horse's head when it was looking at the screen: profile or ¾ view) in order to record the stimulus and the horse's head and neck angle as well as gaze durations.

Using ELAN[®] software (Version 5.2), one experimenter (A.H), blind to the horses' welfare assessment, transcribed the horses' behaviour from the videos of the two conditions. All gazing behaviours (identical between the two conditions) were recorded frame by frame (frame, 0.02s) using continuous focal sampling (Altmann 1974). A gaze was defined as follows: the horse looks for at least one second ($\geq 1s$) at the stimulus (Blois-Heulin 1999). The 'beginning' and 'end' of a gaze were defined when the horse's head started to move respectively into or out of the $\leq 45^\circ$ zone related to stimulus direction (Lampe and Andre 2012). Potential visual laterality was assessed by recording binocular gazes (the horse's head and both eyes were oriented forwards towards the visual stimulus (Fig 2A, B)) and monocular gazes (the horse's head was oriented at less than 45° to the right or to the left with its eyes directed towards the visual stimulus) in order to test any hemispheric bias and hence a difference in valence when stimulus processing (De Boyer Des Roches et al. 2008). Angles were evaluated with respect to the stall horizontal plan and to the mid stall door wall where the stimulus was projected.

Following Rochais et al. (2017), the following temporal and structural data were used to characterize horses' attention:

(1) Reaction time (in seconds), defined as the time between the first occurrence of the stimulus and the horse's first gaze at the stimulus. Reaction time was considered to estimate attentional capture. Subjects that did not gaze at the stimulus during a test were given a maximum score of 300 s (duration of test).

(2) Level of attention: two levels were defined: (a) overall visual attention including all gaze behaviours. Both monocular and binocular gazes were recorded; (b) fixed attention characterized by the exclusive use of the binocular visual field associated with a total fixity of the horse's body (including neck, head, ears and eyes) and both ears pointing towards the stimulus. Fixed attention thus implies (at least) bimodal sensory mobilization (Waring 2003; Wathan and McComb 2014).

(3) Temporal parameters of the overall and fixed visual attention were estimated by the following parameters:

- Duration (in seconds) of each gaze sequence.
- Total duration (in seconds) of gazes at the stimulus (*i.e.* all gazes during the 5-min test).

Times spent gazing at the stimulus with the left and the right eye were discriminated.

- For fixed attention, we recorded the latency (in seconds) of the first gaze sequence.

(4) The structure of the respectively overall and fixed visual attention was estimated by the following scores:

- Number of gaze sequences (*i.e.* number of times a horse gazed at the stimulus during the 5-min test).

➤ An index of attention fragmentation calculated as the ratio between number of gaze sequences and total duration of gazes during the 5-min test (number/s). The index gives an indication of an individual's capacities to modify its attention (*i.e.* ability to shift focus of attention) and hence of attention-holding process (*i.e.* how long a subject gazes at a stimulus).

The greater the index, the more the attention was fragmented.

Welfare assessment & data analysis

Our assessment of horses' welfare was similar to that used by Stomp et al. (2018) and was based on an array of validated behavioural (*i.e.* abnormal repetitive behaviours and aggressiveness towards humans) and postural indicators (*i.e.* ear positions while eating and orientation towards a blind stall wall). All observations and tests were performed by the same trained experimenter (M.S.) during week days and generally during the quiet hours (*i.e.* outside teaching activities), before the two visual attention tests were performed. Two weeks were required to make all the observations.

- Stereotypic behaviour (SB) and other abnormal repetitive behaviour (ARB) (see table 1)

Horses' stereotypic behaviour (defined as 'repetitive behaviour induced by frustration, repeated attempts to cope and/or brain dysfunction'; Mason et al. 2007) and other abnormal repetitive behaviours are known to increase with inappropriate living conditions (*e.g.* Mills 2005) and chronic stress (Mason and Rushen 2006). Six 10-min observation sessions (*i.e.* 60 min in all per horse) were performed when horses were in their home stall. Observations were made during three time periods (twice for each time period): morning (9:00-11:00am), afternoon (2:00-5:00pm) and 30 min before meals (favourable for observing abnormal repetitive movements (*e.g.* Mills 2005; Fureix et al. 2011; Lesimple and Hausberger 2014). Sampling was on an all-occurrence basis (*e.g.* Hafez 1962; Visser et al. 2008), with half of the horses being observed simultaneously, which means that the behaviours concerned were recorded each time they occurred and for each horse.

Data recorded were the numbers (per hour) of stereotypic behaviours and other abnormal repetitive behaviours displayed by each individual.

Table 1: Type, classification and description of recorded abnormal repetitive behaviours

SB/ARB behavioural description	Type	Classification
head tossing / nodding: vertical movements of head and neck	motor	SB
striking with forelimb: horse hits the door or wall with one of its forelegs	motor	SB
box walking: repetitive tracing a route within the stable	motor	SB
cribbing / wind sucking: the horse grasps a fixed object with its incisors, pulls backwards and draws air into its oesophagus	oral	SB
head movements (other than head tossing / nodding): movement of the head	motor	ARB
lip shivering : shivering of the lower lip	motor	ARB
repetitive displacement of the saddle support on the stall door	motor	ARB
tongue movements: movements of tongue, inside or outside its mouth	oral	ARB
repetitive biting: biting a given object in its environment (except the trough)	oral	ARB
repetitive licking: licking a given object in its environment (except the trough)	oral	ARB

- Human-directed aggressiveness during human-horse relationship tests

Horses' aggressiveness is an indication of a negative chronic state resulting from discomfort or pain for example (Fureix et al. 2010b, 2012a) and it is used in a variety of welfare and pain scales (*e.g.* Ashley et al. 2005; reviewed in Hausberger et al. 2016). Social isolation has been shown to lead to aggressive behaviours towards humans while working for instance (Rivera et al. 2002). In order to test individual aggressiveness, horses were submitted in their home stalls to three standardized human-animal relationship tests (*e.g.* Hausberger et al. 2008; Fureix et al. 2009) presented in the following order: a sudden approach, repeated five times (*e.g.* Hausberger and Muller 2002; Rochais et al. 2018a); a motionless person test (*e.g.* Henry et al. 2006) and an approach-contact test (*e.g.* Henry et al. 2005). Data recorded were the total numbers of agonistic behaviours (including ears laid back, threats and attempts to bite) displayed by horses during the three tests (as in Fureix et al. 2009; Henry et al. 2017).

- Ear backwards while feeding in stall

Ears pointing backwards are associated with a horse's negative emotional state including pain (*e.g.* Ashley et al. 2005; for a review: Hausberger et al. 2016) or agonistic interactions (*e.g.* Waring 2003). Observations were made in the stables in calm conditions (outside pellet meal times, on a day off work, between 2 and 5 pm, no wind). In order to have homogeneous conditions, the observer recorded ear positions only when the horse showed no reaction (*i.e.* no change in behaviour) in a single context: the horse was foraging on hay, straw or grass, head down. This context has been shown to be a reliable context for assessing welfare (Fureix et al. 2010a; Lesimple et al. 2016; Henry et al. 2017). Four ear positions were defined: forwards, backwards, sideways and asymmetrical (for details see: *e.g.* Lesimple et al. 2016). Ear positions while feeding were recorded using instantaneous scan sampling (Altmann 1974) with a scan every 2 minutes for 30 minutes (*i.e.* 16 scans). Two sessions, one in the morning, one in the afternoon, were conducted per individual during two consecutive days during quiet hours when all the horses were eating, yielding 64 scans per horse. The percentages of scans including backwards ear positions were calculated for each horse.

- Orientation towards the stall wall

Orientation towards the stall wall has been shown to reflect a lack of interest in their environment related to a desire to “switch off” and avoid contact with people and has been associated with potential health (*e.g.* anaemia) problems (Hausberger et al. 2016). The horses' orientations in their home stalls were recorded using instantaneous scan sampling (Altmann 1974) for 30 minutes with 2-min intervals (*i.e.* 16 scans), outside feeding times, as follows: towards either a blind wall (back wall, partitions) or outside (window or door top). Two sessions, one in the morning, one in the afternoon, were conducted per horse on two consecutive days (64 scans per horse). The percentages of scans including orientation towards a blind wall outside feeding time were calculated.

- Overall welfare assessment

We calculated, for each horse, a total chronic stress score (TCSS) adapted from Hausberger et al. (2012) and Henry et al. (2017) reflecting the level of alteration of its chronic welfare state (see also Stomp et al. 2018). TCSS calculation consisted in ranking the horses according to: 1) the number of human-directed aggressive responses during the three human-horse relationships tests, 2) the number of abnormal repetitive behaviours (including stereotypies) displayed in an hour, 3) the percentage of scans with ears backwards while feeding, and 4) the percentage of scans when facing the wall outside feeding times. For all of these variables, the higher the value, the poorer the welfare state and the higher the rank attributed to the horse. TCSS was then computed by adding up the four calculated ranks for each horse, so that in the end, the higher the horse's TCSS poorer its welfare.

Statistical analysis

As data were not normally distributed, we used nonparametric statistical tests (Siegel and Castellan 1988).

We calculated the individuals' inter-variability for each attentional characteristic using the coefficient of variation ($CV = \text{standard deviation}/\text{mean} \times 100$) (Barlow 1968). We estimated sex effect on each attentional parameter using Mann-Whitney tests. No breed effect could be tested due to insufficient number of individuals of each breed.

We applied Wilcoxon tests to evaluate the impact of test conditions (*i.e.* human vs human-less VAT) on the attentional collected data.

The relationships of each attention parameter analysed in both test conditions (*e.g.* time to react to the stimulus displayed on the door in the human VAT and time to reaction to the stimulus

displayed on the screen during the human-less VAT) were investigated using Spearman's correlation tests.

Spearman's correlation tests were also conducted to test: (1) the effect of individuals' age on the attention parameters; (2) the influence of the time spent in the facility on the attention parameters; (3) relationships between attention variables measured in each condition and the horses' welfare state parameters.

All statistical analyses were conducted using R software 3.3.1 (alpha threshold set at 0.05).

RESULTS

1) Global horses attention's characteristics (Table 2)

Human VAT

All horses gazed at least once at the stimulus displayed with the laser. Reaction times were short (6 of the 9 horses gazed at the stimulus within the first 5 seconds of a test).

Total attention durations ranged from 58 to 290s and the numbers of attention sequences ranged from 6 to 46 with a mean duration of sequences between 3.7 and 48.4s. Horses' fragmentation indices ranged from 0.02 to 0.26. All horses showed at least one sequence of fixed attention. Total durations of fixed attention varied between 44 and 65s including 1 to 21 fixed attention sequences. The fragmentation indices varied between 0.07 and 0.3. In all cases, no laterality effect was found for the total gaze durations for the left or right eye (Wilcoxon test, N=9, V=23, p=1).

Coefficients of variation of the overall and the fixed attention parameters were low for total duration data, numbers of sequences and indices of fragmentation (ranging from 37% to 70%), moderate for overall attention sequence durations (115%), but they were high for reaction times (189%) and latencies for the first sequence of fixed attention (204%).

Human-less VAT

All horses gazed at least once at the stimulus displayed on the screen. Reaction times were short (7 of the 9 horses' first gaze at the stimulus occurred within 5 seconds).

Total overall attention durations varied between 23 and 300s and the number of attention sequences ranged from 1.0 to 70.0 with sequence durations ranged from 1.8 to 59.8s. Horses' indices of fragmentation ranged from 0.01 to 0.54. All except one of the horses presented at least one sequence of fixed attention. Total durations of fixed attention varied between 3.1 and 61.9s; numbers of fixed attention sequences during this time ranged from 1.0 to 23.0 with durations ranging from 1.5 to 5.6s. Fragmentation indices varied from 0.17 to 0.64.

Coefficients of variation (CV) of overall and fixed attention parameters ranged between 55% and 135%. Again, CVs of reaction times as well as of latencies of first fixed attention sequences were higher (reaction time: 215%; latency of first fixed attention sequence: 147%). No laterality effect was found for the total gaze durations with the left or the right eye (Wilcoxon test, $N=9$, $V=25$, $p=0.82$).

No sex differences were found for the overall or the fixed attention parameters (Mann Whitney tests, $N_F=3$, $N_M=6$, $p>0.05$). No correlations were found between horses' age and the different attentional characteristics whatever the condition and the level of attention tested (Spearman correlations, $p>0.05$ in all cases).

Table 2: Attentional characteristics of the two conditions. Wilcoxon tests: $p=0.05$ T, $p<0.05^*$.

Overall attention										
	Reaction time (s)		Number of sequences (n)		Duration sequences (s)		Index of fragmentation (n/s)		Total duration (s)	
	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less
mean±SE	0.3±0.6	0.4±0.9	24.4±11.4	23.1±22	11.9±13.8	13.7±18.6	0.1±0.06	0.1±0.1	207.7±77.1	177±124.1
CV(%)	200.4	215.8	47	95.2	115.9	135.8	48.4	83.3	37.1	70.1
Min	0	0	6	1	3.7	1.8	0.02	0.01	58.2	23.7
Max	1.6	2.6	46.6	70	48.4	59.8	0.2	0.5	290.9	300
Wilcoxon test	V=3, p=1		V=15, p=0.4		V=25, p=0.8		V=30, p=0.4		V=19, p=0.7	
Fixed attention										
	Latency (s)		Number of sequences (n)		Duration sequences (s)		Index of fragmentation (n/s)		Total duration (s)	
	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less	Human	Human-less
mean±SE	6.8±13.9	63.6±93.9	9.3±6.5	7±7.9	5.5±3.3	2.4±1.7	0.2±0.09	0.4±0.22	44.4±28.8	17.8±23.1
CV(%)	204.5	147.7	70.5	113.8	59.8	73.5	44.9	55.9	65	117.8
Min	0	0	1	0	2.4	0	0.07	0	10.1	0
Max	42.1	96.9	21.6	23	13.6	5.6	0.3	0.6	98.6	61.9
Wilcoxon test	V=39, p=0.05 T		V=19, P=0.7		V=5, p=0.03*		V=37, p=0.09		V=8, p=0.09	

2) Variations of horses’ attentional parameters in relation to the presence or absence of a human during tests

Some attentional parameters presented differed significantly between the two contexts: 1) mean durations of fixed attention sequences were significantly higher in the presence ($X=5.5\pm3.3s$) than in the absence of a human ($X=2.4\pm1.7s$) ($V=5$, $p=0.039$) (Fig. 3). 2) The first sequence of fixed attention tended to occur more rapidly in the presence ($X=6.8\pm13.9s$) than in the absence of a human ($X=63.6\pm93.9s$) ($V=39$, $p=0.054$). Thus, horses displayed fixed attention more quickly and in longer sequences when a human was present. Besides, inter-individual

variabilities were lower in the human than in the human-less VAT for all parameters, except reaction times (Wilcoxon test, $N=8$, $V=36$, $p=0.007$) (Tab. 2).

The other attentional parameters were similar in both cases. Thus, we evidenced no significant differences for reaction times (Wilcoxon test, $N=9$, $V=3$, $p=1$) or other parameters ($15 < V < 30$, $0.4 < p < 0.8$) of overall attention. Moreover, median durations of overall attention sequences with the laser and with the screen were positively correlated (Spearman correlation, $N=9$, $r=0.7$, $p=0.04$). Moreover, no visual laterality could be evidenced in both cases (left: $X_{\text{human}}=35.9 \pm 34.5$; $X_{\text{human-less}}=26.3 \pm 27.5$, $V=17$, $p=0.57$; right: $X_{\text{human}}=30.3 \pm 40.3$; $X_{\text{human-less}}=30.9 \pm 44.9$, $V=28$, $p=0.18$).

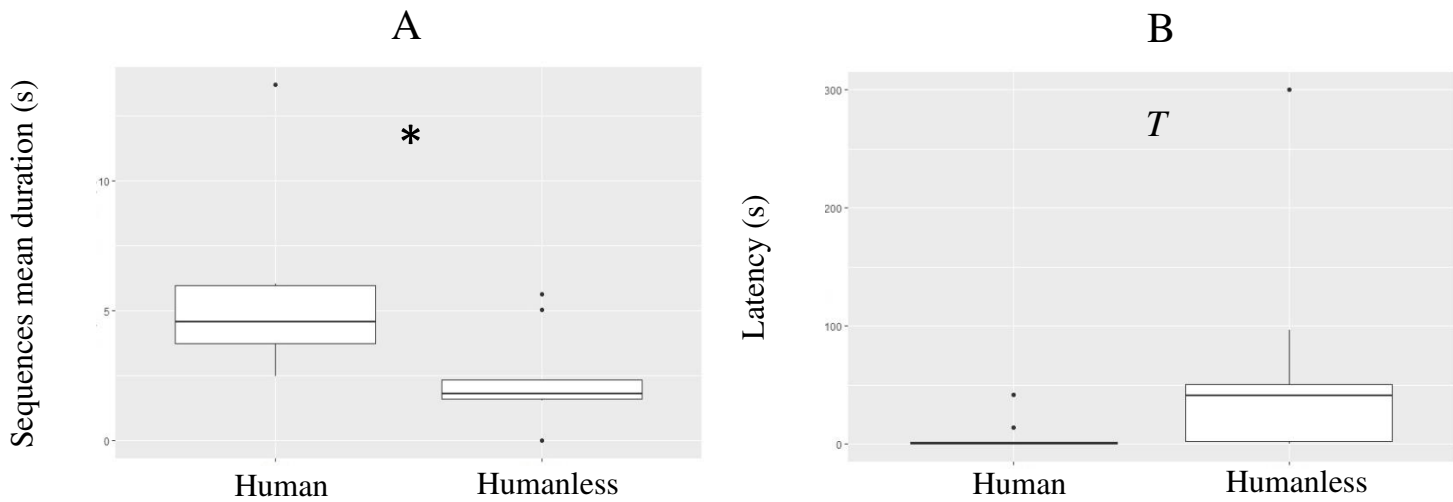


Figure 3: A: durations of fixed attention sequences (mean) and B: latency to show fixed attention (mean) in relation to test context. Wilcoxon tests: $p=0.05$ T, $p<0.05^*$.

In addition, we found that both the total durations and the numbers of fixed attention sequences (Spearman correlations, $N=9$, $r=0.84$, $p=0.004$; $r=0.74$, $p=0.02$ respectively) for the human-less context were positively correlated with times spent by the horses in the facility: the longer the horses had been in the facility, the more fixed attention they displayed in the VAT.

3) Horses' attentional parameters and welfare state

No correlations were found between the attentional parameters obtained in the human VAT and the horses' welfare state (Spearman correlations, $p > 0.05$ in all cases), but the latencies of the first sequence of fixed attention were negatively correlated with TCSS ($r = -0.72$, $p = 0.03$). Thus, the lower a horse's welfare state, the faster it paid attention to the stimulus.

On the contrary, significant correlations were found between attentional parameters in the screen VAT and welfare parameters: 1) the less time the horses spent with ears backwards outside the tests, the less time they spent looking at the test stimulus (Spearman correlation, $N = 9$, $r = 0.66$, $p = 0.05$), the higher their fragmentation index ($r = -0.66$, $p = 0.05$), the shorter their latency for fixed attention ($r = 0.7$, $p = 0.03$); 2) the less time they spent performing stereotypic behaviours outside tests, the less time they spent in fixed attention, ($r = 0.68$, $p = 0.04$) (Fig. 4); 3) a tendency was observed for TCSS: the lower TCSS, the higher a horse's fragmentation index ($r = -0.65$, $p = 0.06$). Thus, horses with less welfare problems paid more attention (overall) to the stimulus and their attention was more fragmented, *i.e.* alternating attention, contrary to stereotypic horses that performed more fixed attention.

No correlations were found between the numbers of aggressive behaviours directed towards a human and the horses' attention, for both contexts.

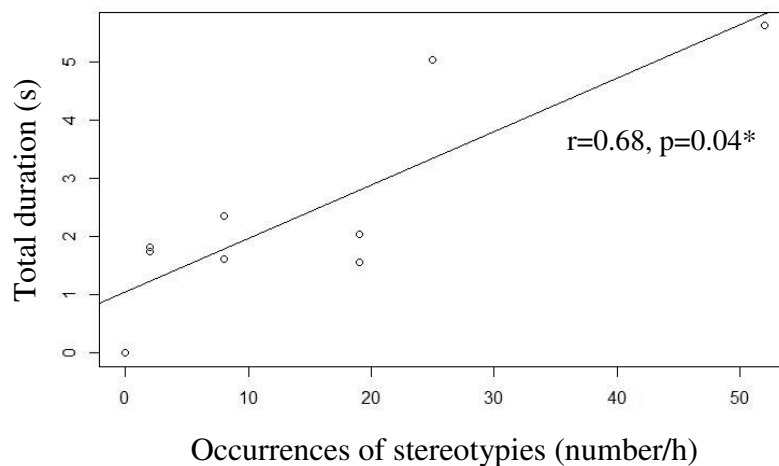


Figure 4: Correlation between total durations of fixed attention and occurrences of stereotypic behaviours. Spearman correlation.

DISCUSSION

Our results of attentional tests performed with or without a human suggest, first an “audience effect”: these riding school horses paid more fixed attention to the visual stimulus, inter-individual variations were smaller when a human was present than when tested alone. Second, in fact, only the horses’ attentional performances recorded scored during tests in the absence of a human were correlated with their welfare state (evaluated outside the test). The attention of horses in a better welfare state was more fragmented.

The presence of a human during VAT was associated with greater and more rapid fixed attention paid to a visual stimulus in their stall. Since humans are an integral part of domestic horses’ environment and they interact daily with them, in particular when working in riding schools, it is not really surprising that human presence has an impact on horses’ cognitive processes. Horse-training and education are essentially based on human instructions. From early age horses are so used to respond to human demands that they are even able to perceive subtle human signals and the human’s attentional state (body postures: Pfungst 1911; Krueger

et al. 2011; Leblanc 2010; gaze: Proops and McComb 2010; Sankey et al. 2011; body orientation: Malavasi and Huber 2016). Moreover, riding school teachers expect their instruction horses to be focused on the task and to show as little interest as possible in other aspects of their environment (Rochais et al. in prep). Therefore, domestic horses may become conditioned to “concentrate” on a stimulus pointed out by humans (here the laser). This hypothesis is supported here by the correlation showing that the longer the horse had been in the facility (*i.e.* the longer it had been used for work with humans), the more it paid attention (duration and number of sequences). In this way it seems that by their mere presence, humans affected the horses’ cognitive characteristics. This “audience effect” was primarily investigated in humans: many reports concluded that the passive presence of other individuals can modify another subject’s behaviour, such as decreasing its food intake (Roth 2000) or increasing time spent near a supermarket shelf (Luck and Benkenstein 2015) and can in particular reduce stress and increase performance during a simple cognitive task (*e.g.* Kamarck et al. 1990; Bowman et al. 2013) or, on the other hand, increase stress and decrease performance when the task is complex (Zajonc 1965). This trait has been described for non-human animals mostly in the framework of vocal communication (*e.g.* Karakashian et al. 1988; Striedter et al. 2003; Zuberbühler 2008): primates can modulate signal production according to the identity of the other individuals present (*e.g.* Marler et al. 1991; Slocombe and Zuberbühler 2007), but reports of an “audience effect” for non-primates mammals (*e.g.* le Roux et al. 2008) are still scarce. However, dogs can modify their behaviour during cognitive tasks in presence of a human (Hare et al. 1998; Miklósi et al. 2003; Horn et al. 2012). Studying avalanche search dogs, Diverio et al. (2017) suggested that they perceived humans’ presence and attention as a positive reinforcement and, as a consequence, as a source of motivation to answer the cognitive demand. While the presence of a human seems to induce more focused general attention to an external visual stimulus, the same stimulus elicited different attentional responses according to the horses’ intrinsic characteristics (*i.e.* welfare state) when no humans were present. Earlier studies

found relationships between attentional characteristics and welfare in the absence of any human interference (Rochais et al. 2016a, b). Here, in the absence of a human horses in better welfare states showed a higher fragmentation of their attention reflecting a more mobile attention with short gaze sequences thus confirming previous findings (Fureix et al. 2012b; Rochais et al. 2016a, b). Rochais et al. (2016b), exploring the attentional abilities of depressive-like horses, pointed out the difficulties these horses had to react to relevant stimuli (*e.g.* vocalisations of different species) in their environment. Similarly, attention (*i.e.* lower attentional engagement) of horses suffering from chronic back disorders was reported (Rochais et al. 2016a). Here, particularly long overall and fixed attention paid to the stimulus by horses in poor welfare states (as shown by their predominant backwards ear position, *e.g.* Hausberger et al. 2016; Lesimple et al. 2016) could be considered related to an attentional disorder as a result of a compromised welfare state. The fact that stereotypic horses' fixed attention was unusually long confirms this assumption. Attention plays the role of a filter of the sensory information available in the environment (Broadbent 1958), implying a inhibition of non-relevant stimulations (Maquestiaux 2017). Inappropriate living conditions are known to lead to injurious effects on cognitive and especially learning abilities, particularly if these conditions are present during a premature life period (rats: Harati et al. 2011; zebra finches: Brust et al. 2014). For instance, authors pointed out that horses showing stereotypic behaviours showed decreased or altered learning performances in (*e.g.* Hausberger et al. 2007; Parker et al. 2008).

In conclusion, this study shows that human audience can have an effect on a domestic animal's attentional engagement in its (non-human) environment. It also confirms that a link exists between welfare and cognitive abilities, but that this may be less obvious when attention is influenced by human presence. More studies with larger numbers of horses and also types of horses (and of working conditions) are needed before any definite conclusion can be made. Maybe the presence of a human is appropriate when evaluating work-related aspects (*e.g.* prediction of attention at work) as shown by temperament studies (Le Scolan et al. 1997; von

Borstel et al. 2011) whereas the absence of a human is required to evaluate intrinsic individual characteristics. At this stage, we suggest that the “classic VAT” (Rochais et al. 2017) is renamed “human VAT” and consequently “human-less VAT” is renamed “screen VAT”. Both tests appear relevant and applying both would be particularly more informative of horses’ individual characteristics.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the riding school owners and staff for letting them observe the horses and for their help on site. We also wish to thank the “Institut français du cheval et de l’équitation” and the “Fonds Eperon” for their financial support. We are grateful to A. Cloarec for correcting the English.

REFERENCES

- Allen KM, Blascovich J, Tomaka J, Kelsey, M. R (1991) Presence of human friends and pet dogs as moderators of autonomic responses to stress in women. *J Pers Soc Psychol* 61:582
- Altmann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 49:227–267
- Ashley FH, Waterman-Pearson AE, Whay HR (2005) Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: application to clinical practice and future studies. *Equine Vet J* 37:565–575. doi: 10.2746/042516405775314826
- Barlow G (1968) Ethological units of behaviour. In: University of Chicago press (ed) *The central nervous system and fish behaviour*, D.Ingle. Chicago, pp 217–232
- Beerda B, Schilder MB., Van Hooff J, et al (1999) Chronic Stress in Dogs Subjected to Social and Spatial Restriction. I. Behavioral Responses. *Physiol Behav* 66:233–242. doi: 10.1016/S0031-9384(98)00289-3
- Benhajali H, Richard-Yris M-A, Leroux M, et al (2008) A note on the time budget and social

- behaviour of densely housed horses: A case study in Arab breeding mares. *Appl Anim Behav Sci* 112:196–200. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.08.007
- Blois-Heulin C (1999) Variability in social visual attention in the red-capped mangabey (*Cercocebus torquatus torquatus*) and the grey-cheeked mangabey (*Cercocebus albigena albigena*). *Folia Primatol (Basel)* 70:264–8. doi: 10.1159/000021705
- Botting JL, Wiper ML, Anderson JR (2011) Brown (*Eulemur fulvus*) and ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) use human head orientation as a cue to gaze direction in a food choice task. *Folia Primatol (Basel)* 82:165–76. doi: 10.1159/000333142
- Bowman ND, Weber R, Tamborini R, Sherry J (2013) Facilitating Game Play: How Others Affect Performance at and Enjoyment of Video Games. *Media Psychol* 16:39–64. doi: 10.1080/15213269.2012.742360
- Broadbent DE (1958) *Perception and communication*, Pergamon P. New York
- Broom D (1991) Animal welfare: concepts and measurement. *J Anim Sci* 69:4167–4175
- Broom D, Fraser A. (2015) *Domestic animal behaviour and welfare*, Cabi
- Broom DM (1986) Responsiveness of stall-housed sows. *Appl Anim Behav Sci* 15:186. doi: 10.1016/0168-1591(86)90074-2
- Brust V, Krüger O, Naguib M, Krause ET (2014) Lifelong consequences of early nutritional conditions on learning performance in zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Behav Processes* 103:320–326. doi: 10.1016/J.BEPROC.2014.01.019
- Burn CC, Dennison TL, Whay HR (2010) Relationships between behaviour and health in working horses, donkeys, and mules in developing countries. *Appl Anim Behav Sci* 126:109–118. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2010.06.007
- Camus SM, Rochais C, Blois-Heulin C, et al (2013) Birth Origin Differentially Affects

Depressive-Like Behaviours: Are Captive-Born Cynomolgus Monkeys More Vulnerable to Depression than Their Wild-Born Counterparts? PLoS One 8:e67711. doi:

10.1371/journal.pone.0067711

D’Aniello B, Scandurra A, Prato-Previde E, Valsecchi P (2015) Gazing toward humans: A study on water rescue dogs using the impossible task paradigm. Behav Processes

110:68–73. doi: 10.1016/J.BEPROC.2014.09.022

De Boyer Des Roches A, Richard-Yris M-A, Henry S, et al (2008) Laterality and emotions: Visual laterality in the domestic horse (*Equus caballus*) differs with objects’ emotional

value. Physiol Behav 94:487–490. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2008.03.002

Diverio S, Menchetti L, Riggio G, et al (2017) Dogs’ coping styles and dog-handler relationships influence avalanche search team performance. Appl Anim Behav Sci

191:67–77. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2017.02.005

Douglas C, Bateson M, Walsh C, et al (2012) Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. Appl Anim Behav Sci 139:65–73. doi:

10.1016/J.APPLANIM.2012.02.018

Doyle RE, Fisher AD, Hinch GN, et al (2010) Release from restraint generates a positive judgement bias in sheep. Appl Anim Behav Sci 122:28–34. doi:

10.1016/J.APPLANIM.2009.11.003

Fordham DP, Al-Gahtani S, Durotoye LA, Rodway RG (1991) Changes in plasma cortisol and β -endorphin concentrations and behaviour in sheep subjected to a change of

environment. Anim Prod 52:287–296. doi: 10.1017/S0003356100012794

Fureix C, Bourjade M, Henry S, et al (2012a) Exploring aggression regulation in managed groups of horses *Equus caballus*. Appl Anim Behav Sci 138:216–228. doi:

10.1016/j.applanim.2012.02.009

- Fureix C, Gorecka-Bruzda A, Gautier E, Hausberger M (2011) Cooccurrence of Yawning and Stereotypic Behaviour in Horses (*Equus caballus*). ISRN Zool 10. doi: 10.5402/2011/271209
- Fureix C, Jégo P, Coste C, Hausberger M (2010a) Indicateurs de bien-être/mal-être chez le cheval : une synthèse. 111–112
- Fureix C, Jégo P, Henry S, et al (2012b) Towards an Ethological Animal Model of Depression? A Study on Horses. PLoS One 7:e39280. doi: 10.1371/journal.pone.0039280
- Fureix C, Jégo P, Sankey C, Hausberger M (2009) How horses (*Equus caballus*) see the world: humans as significant “objects.” Anim Cogn 12:643–654. doi: 10.1007/s10071-009-0223-2
- Fureix C, Meagher RK (2015) What can inactivity (in its various forms) reveal about affective states in non-human animals? A review. Appl Anim Behav Sci 171:8–24. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2015.08.036
- Fureix C, Menguy H, Hausberger M (2010b) Partners with Bad Temper: Reject or Cure? A Study of Chronic Pain and Aggression in Horses. PLoS One 5:e12434. doi: 10.1371/journal.pone.0012434
- Gácsi M, Miklósi Á, Varga O, et al (2004) Are readers of our face readers of our minds? Dogs (*Canis familiaris*) show situation-dependent recognition of human’s attention. Anim Cogn 7:144–153. doi: 10.1007/s10071-003-0205-8
- Hafez ESE (1962) The behaviour of domestic animals. Behav Domest Anim
- Hall C, Goodwin D, Heleski C, et al (2008) Is There Evidence of Learned Helplessness in Horses? J Appl Anim Welf Sci 11:249–266. doi: 10.1080/10888700802101130
- Harati H, Majchrzak M, Cosquer B, et al (2011) Attention and memory in aged rats: Impact

of lifelong environmental enrichment. *Neurobiol Aging* 32:718–736. doi:

10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2009.03.012

Hare B, Call J, Tomasello M (1998) Communication of Food Location Between Human and Dog (*Canis Familiaris*). *Evol Commun* 2:137–159. doi: 10.1075/eoc.2.1.06har

Hausberger M, Fureix C, Bourjade M, et al (2012) On the significance of adult play: what does social play tell us about adult horse welfare? doi: 10.1007/s00114-012-0902-8

Hausberger M, Fureix C, Lesimple C (2016) Detecting horses' sickness: in search of visible signs. *Appl Anim Behav Sci* 175:41–49. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2015.09.005

Hausberger M, Gautier E, Müller C, Jegou P (2007) Lower learning abilities in stereotypic horses. *Appl Anim Behav Sci* 107:299–306. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.10.003

Hausberger M, Muller C (2002) A brief note on some possible factors involved in the reactions of horses to humans. *Appl Anim Behav Sci* 76:339–344. doi: 10.1016/S0168-1591(02)00016-3

Hausberger M, Roche H, Henry S, Visser EK (2008) A review of the human–horse relationship. *Appl Anim Behav Sci* 109:1–24. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.04.015

Hemsworth PH, Coleman GJ (1998) Human-Livestock Interactions : the Stockperson and the Productivity and Welfare of Intensively Farmed Animals. CABI

Henry S, Fureix C, Rowberry R, et al (2017) Do horses with poor welfare show “pessimistic” cognitive biases? *Sci Nat* 104:8. doi: 10.1007/s00114-016-1429-1

Henry S, Hemery D, Richard M-A, Hausberger M (2005) Human–mare relationships and behaviour of foals toward humans. *Appl Anim Behav Sci* 93:341–362. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2005.01.008

Henry S, Richard-Yris M-A, Hausberger M (2006) Influence of various early human–foal

- interferences on subsequent human–foal relationship. *Dev Psychobiol* 48:712–718. doi: 10.1002/dev.20189
- Hoogland J. (1983) Nepotism and alarm calling in the black-tailed prairie dog (*Cynomys ludovicianus*). *Anim Behav* 31:472–479
- Horn L, Virányi Z, Miklósi Á, et al (2012) Domestic dogs (*Canis familiaris*) flexibly adjust their human-directed behavior to the actions of their human partners in a problem situation. *Anim Cogn* 15:57–71. doi: 10.1007/s10071-011-0432-3
- Jakovcevic A, Mustaca A, Bentosela M (2012) Do more sociable dogs gaze longer to the human face than less sociable ones? *Behav Processes* 90:217–222. doi: 10.1016/J.BEPROC.2012.01.010
- Jensen KH, Pedersen LJ, Nielsen EK, et al (1996) Intermittent stress in pigs: Effects on behavior, pituitary — Adrenocortical axis, growth, and gastric ulceration. *Physiol Behav* 59:741–748. doi: 10.1016/0031-9384(95)02159-0
- Kalan AK, Boesch C (2015) Audience effects in chimpanzee food calls and their potential for recruiting others. *Behav Ecol Sociobiol* 69:1701–1712. doi: 10.1007/s00265-015-1982-1
- Kamarck TW, Manuck SB, Jennings JR (1990) Social support reduces cardiovascular reactivity to psychological challenge: a laboratory model. *Psychosom Med* 52:42–58. doi: 10.1097/00006842-199001000-00004
- Kaminski J, Hynds J, Morris P, Waller BM (2017) Human attention affects facial expressions in domestic dogs. *Sci Rep* 7:12914. doi: 10.1038/s41598-017-12781-x
- Karakashian SJ, Gyger M, Marler P (1988) Audience effects on alarm calling in chickens (*Gallus gallus*). *J Comp Psychol* 102:129–135. doi: 10.1037/0735-7036.102.2.129
- Krueger K, Flauger B, Farmer K, Maros K (2011) Horses (*Equus caballus*) use human local enhancement cues and adjust to human attention. *Anim Cogn* 14:187–201. doi:

10.1007/s10071-010-0352-7

Lampe JF, Andre J (2012) Cross-modal recognition of human individuals in domestic horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 15:623–630. doi: 10.1007/s10071-012-0490-1

Latham NR, Mason GJ (2008) Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. *Appl Anim Behav Sci* 110:84–108. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.03.026

le Roux A, Cherry MI, Manser MB (2008) The audience effect in a facultatively social mammal, the yellow mongoose, *Cynictis penicillata*. *Anim Behav* 75:943–949. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2007.07.014

Le Scolan N, Hausberger M, Wolff A (1997) Stability over situations in temperamental traits of horses as revealed by experimental and scoring approaches. *Behav Processes* 41:257–266. doi: 10.1016/S0376-6357(97)00052-1

Leaver LA, Hopewell L, Caldwell C, Mallarky L (2006) Audience effects on food caching in grey squirrels (*Sciurus carolinensis*): evidence for pilferage avoidance strategies. *Anim Cogn* 10:23–27. doi: 10.1007/s10071-006-0026-7

Leblanc M-A (2010) *The mind of the horse : an introduction to equine cognition*, Press, Har

Lesimple C, Fureix C, Menguy H, Hausberger M (2010) Human direct actions may alter animal welfare, a study on horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 5:e10257. doi: 10.1371/journal.pone.0010257

Lesimple C, Hausberger M (2014) How accurate are we at assessing others' well-being? The example of welfare assessment in horses. *Front Psychol* 5:21. doi: 10.3389/fpsyg.2014.00021

Lesimple C, Poissonnet A, Hausberger M (2016) How to keep your horse safe? An epidemiological study about management practices. *Appl Anim Behav Sci* 181:105–114. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2016.04.015

- Lesimple C, Sankey C, Richard MA, Hausberger M (2012) Do Horses Expect Humans to Solve Their Problems? *Front Psychol* 3:306. doi: 10.3389/fpsyg.2012.00306
- Löckener S, Reese S, Erhard M, Wöhr A-C (2016) Pasturing in herds after housing in horseboxes induces a positive cognitive bias in horses. *J Vet Behav Clin Appl Res* 11:50–55. doi: 10.1016/J.JVEB.2015.11.005
- Luck M, Benkenstein M (2015) Consumers between supermarket shelves: The influence of inter-personal distance on consumer behavior. *J Retail Consum Serv* 26:104–114. doi: 10.1016/J.JRETCONSER.2015.06.002
- Maille A, Engelhart L, Bourjade M, Blois-Heulin C (2012) To Beg, or Not to Beg? That Is the Question: Mangabeys Modify Their Production of Requesting Gestures in Response to Human's Attentional States. *PLoS One* 7:e41197. doi: 10.1371/journal.pone.0041197
- Malavasi R, Huber L (2016) Evidence of heterospecific referential communication from domestic horses (*Equus caballus*) to humans. *Anim Cogn* 19:899–909. doi: 10.1007/s10071-016-0987-0
- Maquestiaux F (2017) *Psychologie de l'attention*, De Boeck Supérieur. Bruxelles
- Marler P, Dufty A, Pickert R (1986) Vocal communication in the domestic chicken: II. Is a sender sensitive to the presence and nature of a receiver? *Anim Behav* 34:194–198. doi: 10.1016/0003-3472(86)90023-0
- Marler P, Karakashian S, Gyger M (1991) Do animals have the option of withholding signals when communication is inappropriate? The audience effect. In: Ristau A (ed) *Comparative cognition and neuroscience. Cognitive ethology: The minds of other animals: Essays in honor of Donald R. Griffin*, Hillsdale, pp 187–208
- Marshall-Pescini S, Colombo E, Passalacqua C, et al (2013) Gaze alternation in dogs and toddlers in an unsolvable task: evidence of an audience effect. *Anim Cogn* 16:933–943.

doi: 10.1007/s10071-013-0627-x

Mason G, Clubb R, Latham N, Vickery S (2007) Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Appl Anim Behav Sci* 102:163–188. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.05.041

Mason G, Rushen J (2006) *Stereotypic animal behaviour : fundamentals and applications to welfare*. CABI Pub

Mendl M, Burman OHP, Parker RMA, Paul ES (2009) Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. *Appl Anim Behav Sci* 118:161–181. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.02.023

Mendl M, Burman OHP, Paul ES (2010) An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. *Proceedings Biol Sci* 277:2895–904. doi: 10.1098/rspb.2010.0303

Miklósi Á, Kubinyi E, Topál J, et al (2003) A Simple Reason for a Big Difference: Wolves Do Not Look Back at Humans, but Dogs Do. *Curr Biol* 13:763–766. doi: 10.1016/S0960-9822(03)00263-X

Miklósi Á, Polgárdi R, Topál J, Csányi V (1998) Use of experimenter-given cues in dogs. *Anim Cogn* 1:113–121. doi: 10.1007/s100710050016

Mills DS (2005) Repetitive movement problems in the horse. In: Cambridge university press (ed) *The domestic horse: The origins, development, and management of its behaviour*. pp 212–227

Nawroth C, Brett JM, McElligott AG (2016a) Goats display audience-dependent human-directed gazing behaviour in a problem-solving task. *Biol Lett* 12:20160283. doi: 10.1098/rsbl.2016.0283

Nawroth C, Ebersbach M, Borell E von (2016b) Are Domestic Pigs (*Sus scrofa domestica*)

Able to Use Complex Human-Given Cues to Find a Hidden Reward? Soc Cogn

Nawroth C, von Borell E, Langbein J (2015) “Goats that stare at men”: dwarf goats alter their behaviour in response to human head orientation, but do not spontaneously use head direction as a cue in a food-related context. *Anim Cogn* 18:65–73. doi: 10.1007/s10071-014-0777-5

Pais-Vieira M, Lima D, Galhardo V (2009) Sustained attention deficits in rats with chronic inflammatory pain. *Neurosci Lett* 463:98–102. doi: 10.1016/J.NEULET.2009.07.050

Parker M, Redhead ES, Goodwin D, McBride SD (2008) Impaired instrumental choice in crib-biting horses (*Equus caballus*). *Behav Brain Res* 191:137–140. doi: 10.1016/J.BBR.2008.03.009

Paul ES, Harding EJ, Mendl M (2005) Measuring emotional processes in animals: the utility of a cognitive approach. *Neurosci Biobehav Rev* 29:469–491. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2005.01.002

Pfungst O (1911) *Clever Hans. The horse of Mr. von Osten*. New York

Popescu S, Diugan E-A (2013) The Relationship Between Behavioral and Other Welfare Indicators of Working Horses. *J Equine Vet Sci* 33:1–12. doi: 10.1016/J.JEVS.2012.04.001

Pritchard JC, Lindberg AC, Main DCJ, Whay HR (2005) Assessment of the welfare of working horses, mules and donkeys, using health and behaviour parameters. *Prev Vet Med* 69:265–283. doi: 10.1016/J.PREVETMED.2005.02.002

Proops L, McComb K (2010) Attributing attention: the use of human-given cues by domestic horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 13:197–205. doi: 10.1007/s10071-009-0257-5

Rivera E, Benjamin S, Nielsen B, et al (2002) Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Appl*

- Rochais C, Fureix C, Lesimple C, Hausberger M (2016a) Lower attention to daily environment: a novel cue for detecting chronic horses' back pain? *Sci Rep* 6:20117. doi: 10.1038/srep20117
- Rochais C, Henry S, Fureix C, Hausberger M (2016b) Investigating attentional processes in depressive-like domestic horses (*Equus caballus*). *Behav Processes* 124:93–96. doi: 10.1016/J.BEPROC.2015.12.010
- Rochais C, Henry S, Hausberger M (2018a) “Hay-bags” and “Slow feeders”: Testing their impact on horse behaviour and welfare. *Appl Anim Behav Sci* 198:52–59. doi: 10.1016/j.applanim.2017.09.019
- Rochais C, Henry S, Sankey C, et al (2014) Visual attention, an indicator of human-animal relationships? A study of domestic horses (*Equus caballus*). *Front Psychol* 5:108. doi: 10.3389/fpsyg.2014.00108
- Rochais C, Sébilleau M, Houdebine M, et al (2017) A novel test for evaluating horses' spontaneous visual attention is predictive of attention in operant learning tasks. *Sci Nat* 104:61. doi: 10.1007/s00114-017-1480-6
- Rochais C, Sébilleau M, Menoret M, et al (2018b) Attentional state and brain processes: state-dependent lateralization of EEG profiles in horses. *Sci Rep* 8:10153. doi: 10.1038/s41598-018-28334-9
- Roth D. (2000) The influence of norms on eating behavior: an impression management approach. National Library of Canada
- Rygula R, Pluta H, Popik P (2012) Laughing Rats Are Optimistic. *PLoS One* 7:e51959. doi: 10.1371/journal.pone.0051959
- Sankey C, Henry S, André N, et al (2011) Do Horses Have a Concept of Person? *PLoS One*

6:e18331. doi: 10.1371/journal.pone.0018331

Sankey C, Richard-Yris M-A, Leroy H, et al (2010) Positive interactions lead to lasting positive memories in horses, *Equus caballus*. *Anim Behav* 79:869–875. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2009.12.037

Savalli C, Ades C, Gaunet F (2014) Are Dogs Able to Communicate with Their Owners about a Desirable Food in a Referential and Intentional Way? *PLoS One* 9:e108003. doi: 10.1371/journal.pone.0108003

Schel AM, Machanda Z, Townsend SW, et al (2013) Chimpanzee food calls are directed at specific individuals. *Anim Behav* 86:955–965. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2013.08.013

Seyfarth RM, Cheney DL (1985) Vervet Monkey Alarm Calls: Manipulation Through Shared Information? *Behaviour* 94:150–166. doi: 10.1163/156853985X00316

Siegel S, Castellan J (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*, 2nd edn. New York

Slocombe KE, Kaller T, Turman L, et al (2010) Production of food-associated calls in wild male chimpanzees is dependent on the composition of the audience. *Behav Ecol Sociobiol* 64:1959–1966. doi: 10.1007/s00265-010-1006-0

Slocombe KE, Zuberbühler K (2007) Chimpanzees modify recruitment screams as a function of audience composition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:17228–33. doi: 10.1073/pnas.0706741104

Stomp M, Leroux M, Cellier M, et al (2018) An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses. *PLoS One* 13:e0197898. doi: 10.1371/journal.pone.0197898

Striedter GF, Freibott L, Hile AG, Burley NT (2003) For whom the male calls: an effect of audience on contact call rate and repertoire in budgerigars, *Melopsittacus undulatus*. *Anim Behav* 65:875–882. doi: 10.1006/ANBE.2003.2135

- Szipl G, Ringler E, Bugnyar T (2018) Attacked ravens flexibly adjust signalling behaviour according to audience composition. *Proceedings Biol Sci* 285:20180375. doi: 10.1098/rspb.2018.0375
- Tallet C, Brajon S, Devillers N, Lensink J (2018) Pig–human interactions. In: *Advances in Pig Welfare*. Elsevier, pp 381–398
- Topál J, Miklósi Á, Csányi V (1997) Dog-human relationship affects problem solving behavior in the dog. *Anthrozoos* 10:214–224
- Udell MAR, Dorey NR, Wynne CDL (2008) Wolves outperform dogs in following human social cues. *Anim Behav* 76:1767–1773. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2008.07.028
- Vick S-J, Anderson JR (2003) Use of human visual attention cues by olive baboons (*Papio anubis*) in a competitive task. *J Comp Psychol* 117:209–216
- Vignal C, Mathevon N, Mottin S (2004) Audience drives male songbird response to partner's voice. *Nature* 430:448–451. doi: 10.1038/nature02645
- Virányi Z, Topál J, Miklósi Á, Csányi V (2006) A nonverbal test of knowledge attribution: a comparative study on dogs and children. *Anim Cogn* 9:13–26. doi: 10.1007/s10071-005-0257-z
- Visser EK, Ellis AD, Van Reenen CG (2008) The effect of two different housing conditions on the welfare of young horses stabled for the first time. *Appl Anim Behav Sci* 114:521–533. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2008.03.003
- von Borstel UK, Pasing S, Gauly M (2011) Towards a more objective assessment of equine personality using behavioural and physiological observations from performance test training. *Appl Anim Behav Sci* 135:277–285. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2011.10.007
- Waring GH (2003) Horse behavior. The behavioral traits and adaptations of domestic and wild horses, including ponies. *Horse Behav Behav Trait Adapt Domest wild horses, Incl*

ponies

Wathan J, McComb K (2014) The eyes and ears are visual indicators of attention in domestic horses. *Curr Biol* 24:R677–R679. doi: 10.1016/J.CUB.2014.06.023

Wolf LK, Bazargani N, Kilford EJ, et al (2015) The audience effect in adolescence depends on who's looking over your shoulder. *J Adolesc* 43:5–14. doi: 10.1016/J.ADOLESCENCE.2015.05.003

Zajonc RB (1965) Social Facilitation. *Science*. 149:269–274

Zuberbühler K (2008) Audience effects. *Curr Biol* 18:R189–R190. doi: 10.1016/J.CUB.2007.12.041

DISCUSSION

A travers ces deux études mêlant attention et état émotionnel positif immédiat d'une part, et attention et état chronique d'autre part, nous avons tenté d'évaluer la nature des liens existants entre attention et état interne chez le cheval.

L'un des aspects majeurs de ce travail est la mise en évidence de profils électroencéphalographiques d'activité cérébrale combinant état attentionnel et état émotionnel. En effet, nous avons pu constater en premier lieu une prédominance des ondes bêta (ondes rapides, 12-30Hz), mais surtout thêta (ondes lentes, 3-8Hz), lors de l'exposition des chevaux aux différents stimuli, positif, négatif ou ambigus, de notre tâche spatio-cognitive. Ceci va dans le sens d'une implication des ondes bêta en réponse à une stimulation générant une augmentation de l'excitation (Crone et al., 1998) et du rôle des ondes thêta lors du traitement de tâches cognitives complexes (Asada et al., 1999). Contrairement à notre étude, une implication majeure des ondes gamma a été décrites par Rochais et al. (2018b) lors d'enregistrements réalisés chez des chevaux au cours d'un test d'attention visuelle (VAT), alors que la production d'ondes thêta n'était pas mentionnée. Ces différences pourraient s'expliquer par le fait qu'aucune émotion particulière n'ait été générée par l'apparition de la lumière d'un pointeur laser lors du VAT (stimulus neutre, non associé à une potentielle conséquence), contrairement aux stimuli de notre dispositif expérimental. Ce point essentiel semble alors évoquer que la production de thêta suite à la sollicitation d'une attention soutenue soit catalysée par un éveil émotionnel (*emotional arousal*). Cette hypothèse avait déjà été évoquée chez l'Homme à l'occasion d'une étude menée sur l'activation cérébrale (EEG) en réponse à la diffusion de musiques plus ou moins plaisantes. Les chercheurs avaient en effet décelé une augmentation particulièrement importante des ondes thêta lors de la deuxième partie du morceau, moment où l'intensité émotionnelle était plus élevée, suggérant alors qu'une émotion de plus forte intensité était probablement nécessaire à la production des ondes thêta (Sammler

et al., 2007). Ces résultats semblent ainsi confirmer l'existence d'interconnexions entre attention et émotion. Un éveil émotionnel positif associé à une forte motivation apparaît alors stimuler un haut niveau d'attention chez l'individu et promouvoir la production d'ondes thêta, déjà décrites lors de tâches nécessitant une attention particulièrement soutenue (*e.g.* « matching task », Gevins et al., 1997; détections d'erreurs, Luu et al., 2004).

D'un point de vue fondamental, ces découvertes permettent d'ouvrir le champ d'horizon concernant le traitement cérébral des émotions, jusqu'à présent essentiellement centré sur l'activité des ondes alpha du fait de son activité inversement corrélée à l'activation cérébrale (Aftanas et al., 1996; Davidson, 1995). Nous avons, en effet, pu observer des modulations d'activité hémisphérique concernant les ondes bêta et thêta en fonction de l'ambiguïté et de la valence des stimuli. Une inversion hémisphérique de production des ondes thêta et bêta a été observée selon la valence, positive ou négative, des stimuli ambigus : face au stimulus ambigu positif, une proportion dominante des ondes thêta a été enregistrée dans l'hémisphère gauche et des ondes beta dans l'hémisphère droit, tandis que l'exact opposé a été observé dans le cas du stimulus ambigu négatif. Ce résultat supporte la théorie de la valence hémisphérique supposant un biais d'activation à gauche pour les stimuli positifs et les comportements d'approche (Davidson, 1995). Par ailleurs il confirme l'implication des ondes thêta dans le traitement de stimuli positifs (Aftanas et Golocheikine, 2001; Sammler et al., 2007). Ainsi, une activation majoritaire des ondes thêta, particulièrement dans l'hémisphère gauche, semble être indicatrice d'un état affectif positif associé à une attention soutenue.

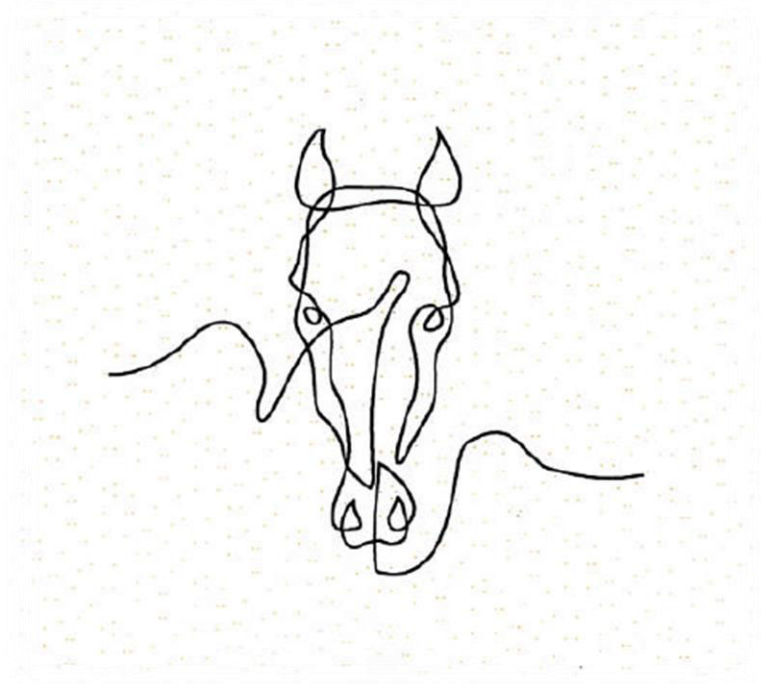
Parallèlement, nos travaux ont permis de révéler une variabilité des caractéristiques attentionnelles des individus selon leur état de bien-être. Il semblerait qu'une altération de l'état chronique soit associée à une plus grande fixité des séquences d'attention, c'est-à-dire une diminution de la fragmentation de l'attention, particulièrement exprimée chez les individus stéréotypiques. A l'inverse, plus les chevaux étaient en bien-être, plus leur attention était fragmentée. Une attention plus mobile avait déjà été constatée chez des chevaux exempts de

mal de dos par rapport à ceux souffrant de problèmes vertébraux (Rochais et al., 2016a), alors que Fureix et al (2012b) ont décrit une fixité inhabituelle du regard associée à une fixité des oreilles, orientées vers l'arrière, chez des chevaux montrant des symptômes de dépression. De même, chez l'Homme, de nombreuses études ont caractérisé une fixité du regard chez des patients atteints de dépression (*e.g.* Starkstein et al., 1996; pour une revue : Carvalho et al., 2015). Ce trouble attentionnel pourrait entraîner de plus faibles compétences cognitives des individus suite à un retrait sensoriel. Un état de mal-être peut effectivement engendrer une diminution des capacités cognitives et une baisse des performances a été démontrée chez des chevaux stéréotypiques (*e.g.* Hausberger et al., 2007; Parker et al., 2008). Par conséquent, il semblerait que le test d'attention visuelle, s'il est réalisé en absence d'un humain, soit un outil de mesure efficace et rapide de l'état de bien-être des chevaux. Un effet d'audience a été observé lors de notre test réalisé avec un expérimentateur présent à l'intérieur du box. Dans ce contexte, les caractéristiques attentionnelles mesurées seraient davantage indicatives des capacités attentionnelles des individus au travail (*i.e.* attention médiée par l'homme).

L'ensemble des conclusions tirées à travers ce chapitre prouvent l'intérêt de considérer les capacités cognitives, et particulièrement l'attention, lorsque l'on souhaite évaluer l'état interne d'un individu. Elles ouvrent par ailleurs de nouvelles perspectives méthodologiques qui pourront permettre d'améliorer nos connaissances à ce sujet.

Chapitre 5

Ebrouement et état interne



5. Ebrouement et état interne

INTRODUCTION

Les signaux acoustiques sont considérés comme l'expression de l'état interne (émotionnel) d'un individu (Seyfarth et Cheney, 2003) du fait du rôle prédominant du système limbique (*e.g.* thalamus), siège des émotions, dans leur production (Jürgens, 2009; Papoušek et al., 1992), mais aussi puisqu'ils se produisent spontanément ou suite à un évènement extérieur (Grandin, 1998). Weary et Fraser (1995) suggèrent même que les signaux acoustiques seraient dans certaines conditions des « signaux honnêtes » (Grafen, 1990; Zahavi, 1987) traduisant de manière fiable les besoins de l'individu (*e.g.* alimentaires, sexuels). Les signaux acoustiques, et plus particulièrement les vocalisations, sont donc amplement étudiés depuis plusieurs années dans le but de mesurer l'état émotionnel immédiat des animaux, voire même leur état de bien-être en fonction de la régularité ou de la fréquence d'émission de ces signaux (Dawkins, 1998). Ainsi, de nombreuses études ont déjà mis en évidence des vocalisations associées à des états émotionnels négatifs immédiats tels que la peur ou l'anxiété (*e.g.* rats : Jelen et al., 2003; porcs : von Borell et al., 2009; pour une revue sur porcs, vaches et poules : Manteuffel et al., 2004), ces dernières étant produites par exemple dans des contextes de séparation sociale (*e.g.* chèvres : Siebert et al., 2011; marmosets *Callithrix jacchus* : Yamaguchi et al., 2010; phoques *Leptonychotes weddellii* : Collins et al., 2011) ou lors de rencontres hostiles entre deux individus (*e.g.* chauves souris *Megaderma lyra* : Bastian et Schmidt, 2008; renards argentés : Gogoleva et al., 2010). En parallèle, les recherches concernant les vocalisations induites cette fois par des émotions positives sont de plus en plus nombreuses. Ainsi, chez le rat, une production d'ultra-sons (50 kHz) a été mise en évidence en réponse à des « chatouillements » d'un expérimentateur (Burgdorf et al., 2011; Knutson et al., 2002), certains auteurs ont alors suggéré que ces vocalisations pourraient être assimilées au rire humain accompagnant le jeu (Panksepp et Burgdorf, 2003). Depuis l'émergence de ces travaux, d'autres études ont proposé

que certaines vocalisations étaient l'expression directe d'émotions positives (*e.g.* porcelets : Leliveld et al., 2016; microcèbes *Microcebus murinus* : Scheumann et al., 2007) et ont démontré, de manière intéressante, que les paramètres acoustiques (*e.g.* durée, fréquence, amplitude) variaient en fonction de la valence et/ou de l'intensité de l'état émotionnel de l'animal (singes écureuils *Saimiri sciureus* : Fichtel et al., 2001; singes de l'ancien monde : Lemasson et al., 2012; éléphants *Loxodonta africana* : Soltis et al., 2011; porcs : Tallet et al., 2013 ; pour une revue : Briefer, 2012), reprenant ainsi la théorie énoncée par Morton (1977) sur le lien entre état motivationnel et structure acoustique.

Bien que très peu étudiés jusqu'à présent, les sons non-vocaux (*i.e.* n'impliquant pas les cordes vocales) apparaissent particulièrement intéressants : en effet, chez plusieurs espèces, y compris l'Homme, certains sons spécifiques sont expressément produits dans des contextes positifs. A titre d'exemple, les soupirs sont produits, chez l'Homme (Vlemincx et al., 2009) et le rat (Soltysik et Jelen, 2005), chez des individus libérés d'une situation stressante. La production de ronronnements a également été décrite chez plusieurs espèces de félins, en milieu naturel ou domestique, lors de contextes socio-positifs ou lors de stimulations tactiles agréables (Bradshaw et al., 2012; Kiley-Worthington, 1984; Peters, 2002; Yeon et al., 2011), associant ainsi les ronronnements à un état de « plaisir » (Kiley-Worthington, 1984). De façon similaire, chez différentes espèces de primates, des ronronnements sont produits par les jeunes lors de toilettages mutuels avec leur mère (microcèbes : Scheumann et al., 2007; capucins : Gros-Louis et al., 2008). Enfin, chez différentes espèces de perrissodactyles, des « snorts » (*i.e.* sons produits par la libération de l'air par les naseaux) ont été enregistrés au cours de sessions de contacts rapprochés entre mère et jeune (*i.e.* toilettage mutuel) (tapirs *Tapirus Terrestris* : Montenegro, 1998), d'activités alimentaires (rhinocéros *Ceratotherium simum* : Linn et al., 2018; Policht et al., 2008), ou encore de repos (raton laveur *Procyon lotor Linnaeus* : Sieber, 1984). De même que pour les vocalisations, certains auteurs ont mis en évidence des variations dans la structure acoustique de ces signaux acoustiques non-vocaux en fonction de l'état interne de l'animal (*e.g.*

présence graduelle de pulsations en fonction de la tranquillité de l'individu) (singes écureuils : Fichtel et al., 2001; Jürgens, 1979; guépards *Cheetah Acinonyx jubatus* : Volodina, 1997).

Chez le cheval (genre *Equus*), il est bien connu que le type de vocalisations émis varie selon le contexte (*e.g.* hennissement lors de séparation sociales, nickers en contexte alimentaire) (chevaux domestiques : Kiley, 1972; Waring, 2003 : Maigrot et al., 2017) et qu'il existe, par ailleurs, un encodage de l'état émotionnel selon les caractéristiques acoustiques de la production vocale (chevaux domestiques : Briefer et al., 2015a; Rubenstein et Hack, 1992; chevaux de Przewalski : Alberghina et al., 2016). Trois types de sons non-vocaux ont été décrits chez le cheval domestique : le soufflement (*blow*), le ronflement (*snore*) et l'ébrouement (*snort*). Tous les trois ont en commun le fait de résulter du passage de l'air dans les naseaux. Par contre, alors que le ronflement est composé de phases d'inhalation et d'expiration, le soufflement et l'ébrouement en revanche consistent uniquement en une expiration forcée de l'air. Malgré des structures acoustiques différenciables, de nombreuses confusions existent encore aujourd'hui en ce qui concerne la terminologie de ces productions sonores et leurs fonctions : souvent, les termes d'ébrouement et soufflement sont injustement intervertis (*e.g.* Dyson et al., 2018; Christensen, 2013; Wolff et al., 1997). Si le soufflement et le ronflement sont produits en concomitance de réactions de peur face à un objet nouveau par exemple, l'ébrouement est décrit à ce jour comme ayant uniquement une fonction hygiénique, *i.e.* permettant de nettoyer les naseaux du mucus et des poussières (Kiley, 1972; Yeon, 2012).

Compte tenu du lien apparent entre sons non-vocaux et état interne (positif ou négatif) chez plusieurs espèces (de périssodactyles notamment), nous examinerons au cours de ce chapitre la possibilité que l'ébrouement soit chez le cheval un indicateur d'émotions positives. Dans un premier temps, nous tenterons de clarifier les contextes d'émission de l'ébrouement afin d'appréhender l'état émotionnel immédiat associé à cette production sonore. Nous évaluerons également en parallèle l'état de bien-être des chevaux vivant en conditions, plus ou moins restreintes (et donc plus ou moins favorables au bien-être), afin d'étudier si la fréquence

Chapitre 5 – Ebrouement et état interne / *Chapter 5– Snort and internal state*
d'émission de ce signal acoustique peut être modulée par l'état chronique des individus (**article 5**). Dans un deuxième temps, nous détaillerons la structure acoustique des ébrouements afin de tester si certains paramètres varient en fonction de la valence ou de l'intensité de l'état émotionnel (**article 6**). Enfin, nous testerons l'utilisation de cet indicateur dans un contexte pratique d'équitation en mettant directement en lien production d'ébrouements et postures du couple cheval/cavalier , connues pour impacter (*e.g.* position du cavalier) ou être le reflet (*e.g.* posture du cheval) de l'état émotionnel et chronique du cheval (Lesimple et al., 2010; Ludewig et al., 2013; von Borstel et al., 2009) (**article 7**).

Synthèse de l'article 5

Question

Les indicateurs d'émotions positives chez l'animal sont encore rares et les quelques marqueurs comportementaux et physiologiques proposés s'avèrent plutôt ambigus, notamment chez le cheval. Des études ont mis en évidence un lien entre signaux acoustiques et état interne de l'animal. Cependant, peu d'entre-elles concernent des émotions positives et encore moins considèrent des sons non-vocaux. Or, des travaux chez plusieurs espèces, dont certains périssodactyles, ont évoqué un lien particulièrement intéressant entre production de ces sons non-vocaux et contextes positifs. Nous avons ainsi émis l'hypothèse que tel pouvait être aussi le cas chez le cheval. En effet, des observations spontanées nous ont permis de constater que l'ébrouement (*i.e.* son plus ou moins vibré produit par l'expiration forcée de l'air par les naseaux) était plus produit à la fois chez certains individus et dans certains établissements aux conditions plus favorables au bien-être du cheval, et ce sans lien apparent avec les conditions de l'air. Nous avons ainsi supposé que l'ébrouement pourrait refléter l'état affectif de l'animal à la suite d'un changement physiologique lié à une excitation positive.

Méthodes

Nous avons observé 48 chevaux vivant dans des conditions très opposées, avec d'un côté 11 chevaux de loisir évoluant en conditions semi-naturalistes (*i.e.* en groupe stable au pré toute l'année), et, de l'autre, 37 chevaux de centre équestre vivant en conditions plus restreintes (*i.e.* box individuel, alimentation à base de concentrés, peu de sorties au pré). Le contexte environnemental immédiat (*e.g.* box/pré), ainsi que l'activité comportementale et la posture (*e.g.* position des oreilles) du cheval, associés à la production des ébrouements, ont été relevés. En parallèle, une évaluation de l'état de bien-être des individus a été réalisée en mesurant des indicateurs comportementaux (*e.g.* taux de stéréotypies) et posturaux (*e.g.* position des oreilles en alimentation) validés.

Résultats

Les résultats ont montré que : (1) la production d'ébrouements était significativement associée à des situations connues pour être positives pour les chevaux (*e.g.* en alimentation au pré) et à un état interne positif (*i.e.* oreilles en position avant ou sur le côté) ; (2) les chevaux de centre équestre ont produit jusqu'à deux fois plus d'ébrouements au pré qu'au box ; (3) les chevaux de la population « naturaliste » ont produit significativement plus d'ébrouements que les chevaux de centre équestre dans des contextes comparables ; (4) la fréquence de production des ébrouements était négativement corrélée au score total de stress chronique : plus le score de stress chronique était faible (reflétant un état de bien-être), plus le taux d'ébrouements produits était important.

Conclusion

L'ensemble des résultats semblent indiquer que la production d'ébrouements est favorisée par un contexte et un état interne positifs. De plus, il apparaît que la production d'ébrouement est modulée par l'état de bien-être : un individu en état de bien-être, qui de fait a plus de chances de ressentir des émotions positives récurrentes, produit plus d'ébrouements qu'un individu avec un état de bien-être altéré.

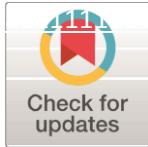
An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses

Mathilde Stomp^{1*}, Maël Leroux¹, Marjorie Cellier¹, Séverine Henry¹, Alban Lemasson¹,
Martine Hausberger²

1 Université de Rennes 1, CNRS, UMR 6552 CNRS Ethologie Animale et Humaine, Université de Caen-Normandie, Station Biologique de Paimpont, Paimpont, France

2 CNRS, UMR 6552 Ethologie animale et humaine, Université de Rennes 1, Université de Caen-Normandie, Rennes, France

*Email: mathilde.stomp@univ-rennes1.fr



OPENACCESS

Citation: Stomp M, Leroux M, Cellier M, Henry S, Lemasson A, Hausberger M (2018) An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses.

PLoS ONE 13(7): e0197898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898>

Editor: Elke Zimmermann, Tierärztliche Hochschule Hannover, GERMANY

Received: January 9, 2018

Accepted: May 10, 2018

Published: July 11, 2018

Copyright:© 2018 Stomp et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This study was funded by IFCE (Institut français du cheval et de l'équitation) (<http://www.ifce.fr/>), the Fonds e'perons (<https://www.fondseperon.com/>), the University of Rennes (<https://www.univ-rennes1.fr/>), and the CNRS (<http://www.cnrs.fr/>). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

RESEARCH ARTICLE

An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses

Mathilde Stomp^{1*}, Maëli Leroux¹, Marjorie Cellier¹, Séverine Henry¹, Alban Lemasson¹, Martine Hausberger²

1 Université de Rennes 1, CNRS, UMR 6552 CNRS Ethologie Animale et Humaine, Université de Caen Normandie, Station Biologique de Paimpont, Paimpont, France, **2** CNRS, UMR 6552 Ethologie animale et humaine, Université de Rennes 1, Université de Caen-Normandie, Rennes, France

* mathilde.stomp@univ-rennes1.fr

Abstract

Indicators of positive emotions are still scarce and many proposed behavioural markers have proven ambiguous. Studies established a link between acoustic signals and emitter's internal state, but few related to positive emotions and still fewer considered non-vocal sounds. One of them, the snort, is shared by several perissodactyls and has been associated to positive contexts in these species. We hypothesized that this could be also the case in horses. In this species, there is a clear need for a thorough description of non-vocal acoustic signals (snorts, snores or blows are often used interchangeably) but overall this sound produced by nostrils during expiration has up to now been mostly considered as having a hygienic function. However, observations revealed that snorts were produced more in some individuals than in others, without relationship with air conditions. We observed 48 horses living in two "extreme" conditions: restricted conditions (single stall, low roughage diet) and naturalistic conditions (stable groups in pasture). The immediate place (e.g. stall/pasture) and the behavioural/postural (behaviour performed/ears positions) contexts of snort production were observed. We additionally performed an evaluation of the welfare state, using validated behavioural (e.g. stereotypies) and postural (e.g. overall ears positions) welfare indicators.

The results show that 1) snort production was significantly associated with situations known to be positive for horses (e.g. feeding in pasture) and with a positive internal state (ears in forward or sideways positions), 2) the riding school horses produced twice as many snorts when in pasture than in stall, 3) the naturalistic population emitted significantly more snorts than riding school ones in comparable contexts, 4) the frequency of snorts was negatively correlated with the composite total chronic stress score (TCSS, reflecting compromised welfare based on the horse's rank on the different indicators): the lower the TCSS, the higher the snort rate. Snorts therefore appear as reliable indicators of positive emotions.

Introduction

Assessing positive emotions in animals is important in the current developments on animal welfare [1]. It can help to define the situations perceived as more favourable by animals and to promote positive practices. Because emotions are short-lived (e.g. [2]), they correspond to an

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

immediate internal state. However, there are still difficulties to measure them. Because animals in altered welfare are more prone to perceive negatively situations [3], finding reliable indicators of positive emotions may be a challenge in animals living in sub-optimal conditions. Indeed, emotions and their resulting behavioural and physiological components are often studied through or using experimental situations created and supposed to induce them, without checking the animals' perception of the presumed positive situation itself. Thus physiological markers often give contradictory results. Heart rate frequency increases during food anticipation (a supposed positive condition: [4]), but decreases during a grooming simulation (interpreted as a relaxing positive event: [5,6]) in horses; cortisol concentration may increase or decrease during access to a food reward in pairs (pigs: [7]) and during positive interactions with humans (dogs: [8]), and its validity as a stress marker may vary between acute and chronic stress (e.g. [9,10]).

Some behavioural indicators of positive emotions have been proposed, such as the behaviours (minks: [11]; silver foxes: [12]) or vocalizations (pigs: [13]) expressed during the anticipation phase of a reward or meal, as revealing the expectation by animals of positive events. However, many of the behavioural components expressed in the anticipation context are ambiguous (e.g. yawning, stereotypic behaviours) (horses: [14,15]; elephants: [16]; cheetahs: [17]) and in any case reveal high intensity emotions reflected by agitation and rapid behavioural transitions [15,18]. Play behaviour has also been proposed and may reflect a transient positive state but it is an ambiguous indicator in adults as revealed by studies on horses and monkeys [19,20]. This behaviour may reflect a "coping mechanism" to unexpected events, learnt during situations inducing a loss of control caused by the individual itself [21]. It may also act in reducing social tensions [22]. Also, for most authors, only high intensity positive emotions are considered (e.g. social play: [1,18]; playful manual tickling: [23,24]). Thus it is rarer to find studies which mention indicators of lower intensity and less ambiguous positive emotions (e.g. calm attention: [25]) and the search for clear visible indicators of positive emotions remains largely open.

Although there have been many studies relating acoustic signals and emotions, very few have broached the question of possible acoustic indicators of positive emotions (elephants: [26]; silver foxes: [27]; humans: [28]). Moreover, the few existing studies are often based on ambiguous states such as the anticipation of events (e.g. [29]). Non-vocal signals have rarely been investigated in this context but the few studies carried out on non-vocal sounds suggest a fairly close connection between acoustic production and internal state. Purring for example, considered by most authors as non-vocal sounds [30], is a well-known example of an acoustic cue mostly related to positive events,

being produced in mammals in a 'relaxed, friendly and probably reassuring/soothing mood', playing the role of a contact signal produced in positive social situations and in absence of social tensions [31]. These observations were convergent in both natural and domestic conditions, including interactions between domestic felids and humans for instance [32]. Other signals, such as snorts, have been classified as reflecting positive (rhinos: [33], tapirs: [34]) or negative (tapirs: [35]) emotional states. Their acoustic structure is remarkable similar between species (including horses).

Horses produce vocal and non-vocal signals, including snorts (e.g. [36]). Several studies already showed that some of their vocalizations were enhanced in specific situations according to the valence associated [37,38]. Moreover, particular acoustic parameters of the whinnies have been proposed to encode either the level of arousal or the valence of emotions (e.g.[29,39,40]), making acoustic signals highly interesting markers of emotions. Although there is confusion in the terminology associated with non-vocal sounds in horses between studies (snorts, snores, blows being all the consequence of a "forceful exhalation through the nostrils", the terms have been used interchangeably in many studies), leading to contradictory assumptions about their potential functions, snorts, as defined here (see further) have been mostly associated with a hygienic function of "clearing the nostrils of phlegm, flies or other irritants" [36,37]. However, anecdotal reports indicate that horses' snorts are often heard during positive situational changes or, like in rhinos, while foraging (personal observations). In the present study, we hypothesized that snorts may, as a result of a mild positive excitation, be a behavioural reflection of a transient positive physiological change.

Animals living in good welfare conditions have more chances to experience a positive "mood" (e.g. horses: [41,42], pigs: [43]; poultry: [44,45]; sheep: [46]; rats: [47]; starlings: [3]). More recently, it was shown that horses living in "extreme welfare" conditions such as single stall housing, restricted roughage and intensive tight riding versus naturalistic conditions in stable groups in pastures and occasional relaxed leisure riding differed clearly in terms of cognitive biases hence in their chances to experience a positive emotion when the situation improves [48]: after having been trained to discriminate bucket positions with positive versus negative experiences, naturalistic-like horses tended to consider intermediate positions as positive ("optimistic" profile) contrary to horses living in restricted conditions ("pessimistic" profile). Therefore, in the present study, horses from three different populations, including these two extreme situations, were observed in their usual living conditions. The study included two aspects: 1) the immediate context and animal's behaviour and posture at the time of snort production, which informed us of the valence of context and animal's state; and 2) whether snort production was related to the animal's chronic welfare state, as a potential modulator of positive emotions. We hypothesized that 1) snorts would be produced more when the animal was in a beneficial condition (i.e. pasture/stall, [49]) and 2) that horses in better welfare would be more prone to produce them than those with an altered welfare when in "improved" conditions.

Materials and methods

Ethical note

The experiments were carried out in 2016 in accordance with the European Parliament and the European Union Council relative to the animals' protection used for scientific purposes directive 2010/63/UE and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree n°2013–118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under n° R. 214–87 à R.214-137). The experiments made in this study did not enter in the scope of application of the European directive, thus in accordance with this directive and the current French laws, the following experiments did not require a request for authorization to experiment.

Private owners of the riding schools and of the leisure horses gave us the permission to conduct the study on their sites. Animal husbandry and care were under the management of the riding school staff and the leisure horses' owners: the horses used in this experiment were not research animals.

Terminology

Three different non-vocal sounds have been described in horses [50] (Fig 1). All of them are produced via the passage of the air through the nostrils. The snore is a very short raspy inhalation sound produced in a low alert context, such as investigating a novel object or obstacle. It could also be produced prior to emitting a blow; the blow corresponds to a short very intense non-pulsed exhalation through the nostrils and is generally associated with vigilance/alarm postures (e.g. presence of a fear-inducing object in the surroundings); the **snort** corresponds to a more or less pulsed sound produced by nostril vibrations while expelling the air, with a

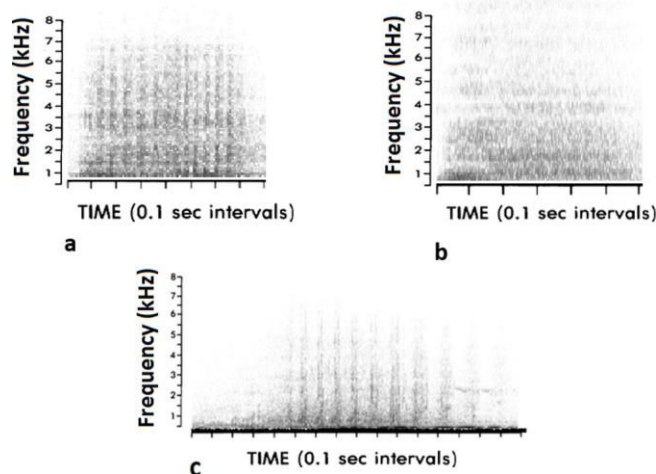


Fig 1. Spectrograms of a) a snore, b) a blow and c) a snort. The three sounds were extracted from the recordings performed in the present study.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g001>

slightly longer duration in comparison to the blow. Since the description of the horse's vocal repertoire is recent and still requires further investigation, there is still some confusion in the existing (mostly earlier) literature between these different sound categories (e.g. blows called snorts by several authors [51–53]). The confusion (of terminology) between snorts on one hand and snores and blows, which clearly reflect high fear responses [50] on the other hand, particularly in studies on emotionality and fear (e.g. [54–58]), shows how it is important to clearly define sounds on the basis of their acoustic structure in order to understand their causality and function. Clear examples

showing the structural differences have been given by Waring [50] and Kiley [37] but no thorough description of their acoustic properties has been done yet. However, all agree that the distinction by ear is easy, only the choice of terminology varies according to authors.

In the present study we will consider a “snort” as a more or less pulsed broad-band sound of forceful exhalation through the nostrils, produced mouth closed (Fig 1).

Subjects and management conditions

This study was conducted in Brittany (France) on a total of 48 individuals, 18 females, 25 geldings and 5 stallions, from various breeds (18 breeds represented, as well as unregistered or mixed-breed horses; 31.2% of French Saddlebreds) and ages (4 to 25 years). It involved four populations of horses (4 sites) (Table 1). On each site, only the horses that had been living on the same site and in these same conditions for at least one year have been observed. Moreover, only horses without known or visible respiratory problems have been considered.

Table 1. Characteristics of the living conditions by population. The time spent in individual stall and pasture was calculated considering a classical working day starting from 7am and ending at 7pm. The time spent in pasture was determined after an entire week of observations during the same time slot. Social instability may trigger more aggressiveness [76], “English” classical riding practices (e.g. short reins) have been linked to back disorder [54].

Population	Abbreviation	Number of individuals	Time spent in individual stall	Time spent in pasture	Social stability	Equitation
Riding School A	RSA	19	>90% of the time	1 to 4 hours per day	Unstable partners	English riding style
Riding School B	RSB	18	50% of the time	6 hours per day	Stable partners	English riding style
Naturalistic group	NC	11	Never in stall	Full time	Stable partners	Leisure

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.t001>

The first two populations were living in two riding schools (Riding School A (“RSA”): N = 19, 5 mares and 14 geldings, 4 to 15 years old, X +SE = 10.5+3.0 (the age of one of the horses was unknown); Riding School B (“RSB”): N = 18, 9 mares and 9 geldings, 5 to 22 years old, X +SE = 13+4.8). Both riding schools were characterized by restricted housing conditions (Fig 2): horses were kept in 3x3 m individual stalls in a barn (with door openings and grids in the wall allowing visual contact with conspecifics), fed industrial pellets twice a day (in the morning: 9:30 am in RSA, 8 am in RSB and in the evening: 6pm in RSA and 7pm in RSB) and hay (6-7kg) once a day (9am), and were working in riding lessons (including being ridden by riders from beginner to experienced) for 4–12 hours per week under the supervision of a riding teacher. The horses were ridden with typical English riding style (see also [6,59,60]). There were some differences though in the management practices between both facilities: the horses in RSA went out to paddocks (with grass) every day from one to four hours per day with variable social partners, while those in RSB went out as stable groups (from 2 to 11 individuals) into pastures (with grass) for about 6 hours per day every day. Another difference was that the stalls in RSA were straw bedded while they were shavings-bedded in RSB.

The other populations consisted in five different groups of leisure horses kept under naturalistic conditions year-round on two sites: social stable groups of 2–4 individuals (two family groups, one only-mares group, one all-male group, one gelding-mare group) in 1–2 ha natural pastures, fed grass and hay *ad libitum* during winter (no industrial pellets) and used for occasional outdoor relaxed leisure riding (*i.e.* low hands and long reins; see also [48,59]). One group belonged to the University of Rennes (N = 3, 3 stallions, from 5 to 16 years old, X +SE = 8.6±6.3) and the four other groups to a private owner (N = 8, 2 stallions, 2 geldings and 4 mares, from 12 to 25 years old, X +SE = 17.8±4.6). Given that no differences were found between groups in terms of age, snort rates, body conditions and welfare parameters (Mann Whitney tests, p>0.05, S1 Table), data were pooled in all subsequent

analyses and these groups were merged under the name of “Naturalistic group” (“NC”) (Group NC: N = 11, 5 stallions, 4 mares and 2 geldings, from 5 to 25 years old, X +SE = 15.3±6.4).

Data collection

Snort production and immediate context. The snort rates produced by each individual were measured by one single experimenter (M.L.), blind to the data on welfare assessment, using 5 min—Focal behavioural samples [72]. Horses from riding schools were observed both in stalls and in pastures while the leisure horses were only observed in pastures. The context (stall/pasture) and the assumed internal state (as expressed by behaviour/posture) of the animal at the precise time of production were examined.



Fig 2. Expected welfare state according to the different living conditions' characteristics observed [61–71]. Crosses correspond to the living conditions observed in each populations; cross colour corresponds to the population colour.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g002>

In the stables, the experimenter performed 5 min—focal behavioural sampling, simultaneously on two neighbouring horses, focusing on the snort production. The experimenter followed a standardized route along the corridor separating the two rows of stalls and stopped at each pair of stalls encountered. The starting point of the route changed every day so that each pair of riding school horses was never observed at the same time of day over the entire study duration. For the outdoor observations, the experimenter followed again a standardized route that brought in to each different group. Again, sessions of 5 min—focal behavioural samples were performed facing the different groups (from one to four individuals maximum observed at the same time).

On average 12±3 focal behavioural samples were collected per horse per context (pasture and/or stall). One RSB horse could not be observed in the pasture condition. Thus when considering this context, samples were as follows: N_{RSA} = 19, N_{RSB} = 17, N_{NC} = 11.

Moreover, in order to determine the internal state of horses at the precise time of snort emission, the experimenter recorded the activity (e.g. eating, scanning the environment) and the ears position of the emitter associated to the snort production. The ears position is known as an indicator of current internal state of the animal. In fact, in horses, backward ears position is commonly associated with negative emotional states, such as discomfort or pain (e.g. [73]; for a review: [74]) or during agonistic interactions (e.g. [50]), while forward or sideways ear positions indicate rather attention and positive emotions [25,75,76]. Four positions were defined in accordance with previous studies (e.g.[60,77]); forward (tip of the ear towards the front at an angle of more than 30° from the perpendicular), backward (tip of the ear towards the back at more than 30° from the perpendicular), asymmetrical (one specific direction for each ear) and sideward (auricles turning at 90° from the axial position—perpendicular to the head).

Snorts were sampled by ear but also thanks to a directional microphone (Sennheiser1 K6/ ME66), connected to a digital stereophonic portable recorder (PMD661 Marantz1, sampling rate 44100Hz, resolution 16 bits). The directional microphone was equipped with a wind for the outside context in order to soften background noises due to wind. Additionally, a microphone (Sony1 ECM-T6) was used to record the experimenter's voice, giving contextual and individuals' information (see above).

In addition, we took the opportunity to record four leisure horses while they were going into a new pasture full of fresh resources. This situation allowed us to have a contrast situation as the one experienced by riding school horses with on one hand stall and on the other hand pasture. In the same way as in the outdoor condition, the first experimenter (M.L) measured snort rate production in several sessions of 5 min—Focal behavioural samples.

Baseline behavioural and postural observations. Finally, with the aim of studying the contrast of internal state expressed by the horses while snorting on one hand and during a baseline situation on the other hand, a second experimenter (M.S.) (blind to the snorts recording) made observations of 1) the horses' activity according to a behavioural repertoire based on the typical horse ethogram [50] (S2 Table), and 2) the horses' ears position, using an instantaneous scan sampling method [72] with 2 min intervals, in both contexts (stall/pasture). This enabled to have the time spent by the horses performing different activities as well as their ears positions associated while a basal situation. The latter observations were conducted in calm conditions (outside pellets feeding times, day off). Two sessions (1 in the morning, 1 in the afternoon) of 30 minutes per individual were conducted on one day. This operation was repeated one day after. Thus in total 62 scans of activity and ears positions per context were obtained per horse. These data allowed us to obtain a percentage of time spent doing each activity along with a percentage of each ears position expressed.

Welfare assessment. Welfare assessment was based on an array of validated behavioural, postural and health-related indicators. One observer (M.S.), blind to the data on the snorts, performed all the observations.

1. Body assessment

Two measures were made once at the beginning of the study. First, body condition score (BCS) of each horse was evaluated according to Arnaud *et al.* [78]. The BCS results from an evaluation of the mass of fat deposits in five specific body locations (the upper edge of the neck, the wither, the back of the shoulder, ribs, the tie of the tail) by palpation, by a visual assessment of seven anatomical sites (the upper edge of the neck, the wither, the back of the shoulder, the back line, ribs, the croup, the tie of the tail). According to a specific evaluation grid, each assessment received a score ranging from 0 (no fat deposits) to 5 (significant presence of fat): the average of the scores obtained defines the BCS of the horses ranging from 0 (emaciated) to 5 (obese).

Neck shape has been shown to differ between populations independently of sex, age or breed, reflecting life conditions [79] and spine state [54, review in 64,65]. Precise measures of both neck shape and the spine state (through practitioner examination and EMGs evaluations) have shown that a hollow/flat neck reflects muscular tensions in different parts of the spine, while a round neck characterizes healthier backs [81]. Neck shape can easily estimated by looking at the angle formed by the segment linking the cervic-thoracic junction and the trapezium cervical ligament at C3 with the segment linking the trapezium ligament and the dorsal part of the atlas. According to Lesimple *et al* [81]'s measures, the horses' neck was classified as hollow, flat or round. Since flat and hollow necks tend to an altered spine state, the horses were classified as having a round or hollow/flat neck.

2. Behavioural measures

- Stereotypic behaviours (SB, defined as “repetitive behaviours induced by frustration, repeated attempts to cope and/or brain dysfunction”; [82]) and other abnormal repetitive behaviours (ARB) have been shown to reflect inappropriate living conditions in horses (*e. g.* [69]) and chronic stress in a variety of species [83]. Stereotypic behaviours in horses are associated with lower cognitive abilities [84] and fertility [85]. Six sessions of observation (60 min in total per horse) were performed in the home stall. Observations were made during three time periods (twice per time period): 9–11 a.m., 2–5 p.m. and 30 min before the meals (favourable for observing abnormal repetitive movements (*e.g.* [14,86]), and at quiet times (outside teaching activities) with little disturbance by the routine procedures. Data recorded were the number of stereotypic behaviour and abnormal repetitive behaviours exhibited per individual (for 60 min).

In the present study, the observer stood motionless at one point in the middle of the corridor at equal distance between the two rows of stalls so that she could see six horses at the same time. In stalls, horses generally performed SB/ARB only when their head was at the box door. The sampling was on an all-occurrence basis [53,71] which means that the behaviours concerned were scored each time they occurred together with the horse identity. SB and ARB were identified based on the list described by Lesimple *et al* [88] and Mills *et al* [69]. For a behaviour to be considered as SB/ARB, the behavioural sequence had to be repeated at least 3 times successively and observed 5 times, independently of the period of observation. Different types of these behaviours were observed (see further Table 1). Finally, we added up the number of stereotypic behaviours “SB” and abnormal repetitive behaviours “ARB” collected during all sessions for each horse.

- Aggressiveness is a common expression of discomfort [87] or pain in horses as revealed by experimental studies [89,90] and it is used in a variety of welfare and pain scales (*e.g.* [73]; reviewed in [74]). Moreover, it has been shown that horses isolated in stall could become aggressive towards human, while working for instance [91]. In order to test individual aggressiveness, horses were submitted to three standardized human-animal relationship tests (*e.g.* [92]) in their familiar environment, performed in the same order for all horses:

1. Sudden approach tests [93–95], where the experimenter, walking slowly along the corridor, appeared suddenly at the top part of the closed door of the box while the horse was feeding (hay, straw). The stalls were equipped with Dutch wooden-doors with the top and bottom divided, the bottom being solid and the top with wire grids. The horse’s first reaction was assessed as *non-aggressive* (*i.e.* looks at the experimenter with upright ears and approaches or does not show any evidence of directed attention toward the experimenter) or *aggressive* (*i.e.* looks at the experimenter with backward ears, and/or moves towards the experimenter with ears backward).
2. A motionless person test (*e.g.* [92,96]), during which the experimenter entered the box and stood motionless with her back against the closed door, facing inwards and looking at the ground. The test lasted 1 minute. Data recorded were the total number of aggressive behaviours displayed by horses, including threats (threats always included ears backwards and could vary from simple threats, *i.e.* looking with ears laid back, threats to bite to threatening approaches) and real aggression (bites) (for more details, see [94]).
3. An approach contact test where the experimenter was positioned at 1.5m from the subject and approached him perpendicularly, one step per second, up to the neck’s level. Then, she tried to

touch the horse without forcing the contact. The horse was free to withdraw. The test ended when the experimenter succeeded in stroking the horse at least 2s, or after 3 unsuccessful trials. This test was conducted at right and left horses' sides in a random order [94,97].

We noted all agonistic behaviours (ears [94] laid back, threats, and attempts to bite) directed towards the experimenter during these three tests, performed in stall for the riding school horses, in the pasture for the leisure horses. Since no difference was found between the left and the right side (Wilcoxon test, $N = 36$, $V = 31$, $p = 0.31$), agonistic behaviours from both sides were pooled.

3. Postural measures

- Ears positions were again measured for welfare assessment and thus recorded also outside the emission of snorts. In horses, backward ears position is commonly associated with negative emotional states, such as pain (e.g. [[73]]; for a review: [74]) and reflects chronic "mood" or state in horses [48,60] especially when recorded when horses are foraging [60]. The forward or sideways positions are the ears position commonly observed while grazing [50]. The same four positions described above were considered (forward, backward, asymmetrical and sideways). In order to have homogeneous conditions, the observer recorded ears positions only if the horse did not show any reaction (*i.e.* no change in behaviour) when she was observing, and in a single context: the horse had to be foraging on hay or straw or grass, head down as it has been shown to be the most reliable context ([98], and according to [60] and [48]). For the riding school horses, observations were made in the stables in calm conditions (outside pellets feeding times, day off, 2 to 5 pm, no wind). For the leisure horses, observations were made outdoors when horses were grazing, with the observer standing motionless outside the pasture (after at least 10min habituation). Ears position while feeding were scored using an instantaneous scan sampling method [72], with 2 min intervals. Two sessions (1 in the morning, 1 in the afternoon) of 30 minutes per context (stalls and pastures) and per individual were conducted on one day. This operation was repeated one day after. Thus in total 62 ears positions per context were obtained per horse. These data allowed us to obtain a percentage of each ears position during feeding for each horse.
- The orientation towards the wall in the stall reflects a lack of interest towards the environment associated with potential health (e.g. anaemia [74]) or "psychological" [99]. In the present study we were only interested in orientations outside feeding time when animals were inactive. Therefore, horse's orientation towards either a full wall (back wall, partitions) or outside (window or door top) was noted using instantaneous scan sampling method [72], with 2 min intervals. Two sessions (1 in the morning, 1 in the afternoon) of 30 minutes per individual were conducted on one day. This operation was repeated one day after. Thus in total 62 scans of orientation in the stall context were obtained per horse. These data allowed us to obtain a proportion of time (percentage of scans) spent with an orientation towards a full wall by individual outside feeding time. Given their living conditions all day long in pasture, this sampling could be not conducted for the leisure population.

4. Overall welfare assessment

On the basis of the behavioural and postural data, a chronic stress score (TCSS) that reflects how much the chronic welfare state is altered, adapted from Hausberger *et al.* [19]' and Henry *et al* [48]'s studies, was calculated for each horse. TCSS calculation consisted in ranking the horses according to 1) their number of aggressive responses during the three humanhorse relationships tests, 2) the number of stereotypic behaviours displayed in 60 minutes of all-occurrence sampling sessions, 3) the

percentage of scans spent with ears backwards while feeding, as well as 4) the percentage of scans spent facing the wall. For all of these variables, the higher the value obtained was, the poorer the welfare state was and the higher the rank attributed to the horse was. Ranks were added up between variables for each horse, such that at the end, the poorer the welfare of the horse the higher its TCSS. For instance, a horse that ranked 9th lowest according to its number of aggressive responses, 8th lowest according to its number of stereotypic behaviours occurrences, 5th lowest according to its percentage of scans spent with ears backwards while feeding, and 8th lowest according to its percentage of scans oriented towards wall got a TCSS of 30; which was higher, and consequently reflected a poorer welfare, than a TCSS of four obtained by a horse ranked 1st lowest in all variables. Several composite scores were calculated according to the study population considered: one with all subjects combined (TCSS 1, N = 47), one with all horses in riding schools combined

(TCSS_{RS}, N = 37) and one for each facility (TCSS_{RSA}, TCSS_{RSB} and TCSS_{NC}). The TCSS score attributed when considering all three groups (TCSS 1) was based on the parameters 1) number of aggressive responses, 2) number of stereotypic behaviours and 3) percentage of scans spent with ears backwards while feeding, only since there was no possibility to evaluate the fourth parameter for the NC group. Since the pasture context was the only common context for the three populations observed, we considered the ears position while feeding based on pasture observations only when calculating TCSS1, considering all the horses together.

Otherwise, the TCSS_{NC} specific to the naturalistic population was based on the behavioural parameters 1) number of aggressive responses and 2) number of stereotypic behaviours only, given that NC horses were living outdoor permanently and that no ears-back position during feeding time has been observed in pasture for this population.

Statistical analyses. As data were not normally distributed, we used nonparametric statistical tests [100].

As the number of 5min—Focal samples was not totally identical between subjects, each individual snorting rate was weighted considering the average number of focal samples (12 focal samples) done by the observer for all individuals on one hand, and the total number of focal samples realized by context for the individual on the other hand. Additionally, we calculated the inter- and intra-variability of snorts production among individuals using the coefficient of variation (CV = standard deviation/mean x 100) [101].

Mann-Whitney tests were used to compare TCSS scores between the two riding school populations, as well as their respective time spent ears backwards while feeding. Otherwise we used this test in order to compare the snort rates according to the type of neck.

We ran Wilcoxon tests in order to compare the snort rates depending on the emission context (pasture vs stall). Moreover the emitter's ears positions while producing snorts were compared with that observed in the rest of the observations using a Wilcoxon test.

Kruskal-Wallis tests were performed to compare TCSS and BCS scores, and snort rates between populations followed by pairwise comparisons adjusted with Bonferroni correction. Moreover, we ran chi squared tests for the purposes of comparing neck postures samples (number of horses) by populations.

Finally, in order to test the possible link between snorts production and welfare state, we conducted Spearman correlations. We investigated possible relations between snort rates and TCSS scores. First, we applied these correlations to: 1) all individuals pooled together, and 2) all riding school subjects. Possible specific links between snort emission and particular parameters of altered welfare

were tested by running correlations with each altered welfare parameter (BCS scores, ranks) tested independently.

All statistical analyses have been conducted using R software 3.3.1 (alpha threshold set at 0.05).

Results

560 snorts were recorded and all individuals produced some (0.75 to 12.8 per hour per individual). No differences according to sex (Mann-Whitney U-test, $N_F = 18$, $N_M = 29$, $W = 292.5$, $p = 0.49$), nor age (Kruskal-Wallis test, $N_1 = 6$, $N_2 = 24$, $N_3 = 16$, $X^2 = 3.23$, $df = 2$, $p = 0.19$) were found in regard to the total snort production (S3 Table).

1) Could snorts reflect current positive emotions?

1.1) Contextual evidence: stall versus pasture. In the two riding school populations, horses produced in average 5.66 ± 3.32 snorts per hour. Snort rates clearly differed according to the context of production: overall subjects emitted significantly more snorts when they were in pasture than when they were in their individual stall (Wilcoxon test, $N = 36$, $Z = 2.84$, $p = 0.004$) (Fig 3). Indeed, eight horses did not produce any snort in stall. Thus, in total we recorded 454 snorts in riding school horses: 189 in stall (29 horses) and 265 in pasture (36 horses).

Otherwise the horses' behavioural expression differed according to the context. The pasture context was less prone to the expression of aberrant behaviours since no SB/ARB nor withdrawn posture were observed when horses were outdoors contrary to the stall.

1.2) Behavioural and postural evidence. 1.2.1 Activities. Whether in stall or in pasture RS horses snorted mostly while eating (stall (hay): 67.3%, pasture (grass): 69.6% of snorts). They also produced more snorts during quiet observation when in stall (24.5%), and during slow exploratory walking when in pasture (20.3%). No snort was ever recorded while the

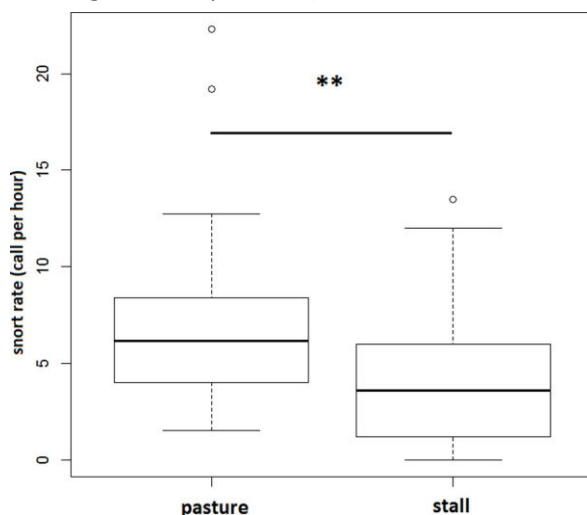


Fig 3. Snort rate according to two different contexts (stall and pasture).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g003>

animal performed a stereotypic behaviour, was facing the wall or was being aggressive (toward a human or another horse).

Similarly, the NC subjects performed snorts mostly while eating grass (68.9%), or in a slow exploratory walk (20.1%). In some cases, snorts were also produced just after rolling (5.4%).

1.2.2 Ears positions. **1.2.2.1 At the overall population level (outdoors).** The time spent with the ears in forward/sideways position measured during baseline observations was $92.8 \pm 16.9\%$ when the horses were outside (pasture/paddock), but this proportion was significantly higher when only the moment of snorting was considered: $99.5 \pm 11.7\%$ of the snorts were produced with the ears in this position (Wilcoxon test, $N = 47$, $Z = 3.47$, $p < 0.001$). Logically, we found that horses expressed less ears backwards when producing snorts ($\mu_{\text{snorts}} = 0.19 \pm 1.32\%$) compared to the baseline level ($\mu_{\text{general}} = 4.58 \pm 2.23\%$) in pasture (Wilcoxon test, $N = 47$, $Z = 2.99$, $p = 0.002$).

1.2.2.2 Stall context: The riding school populations. In stalls, snorts were more often accompanied by forward/sideways ears positions than in a general situation ($\mu_{\text{snorts}} = 92.7 \pm 20.8\%$; $\mu_{\text{general}} = 85.5 \pm 13.4\%$; Wilcoxon test, $N = 29$, $Z = 2.51$, $p = 0.01$) and less ears backward positions ($\mu_{\text{snorts}} = 4.5 \pm 18.4\%$) than in a general situation ($\mu_{\text{general}} = 8.2 \pm 9.4\%$) (Wilcoxon test, $N = 29$, $Z = 2.84$, $p = 0.004$).

Finally, we had the opportunity to follow one group of the NC horses when it was moved to a new pasture with more feeding resources. The four horses produced up to ten times more snorts per hour than in the previous situation ($\mu_{\text{previous}} = 6 \pm 4.2$; $\mu_{\text{new}} = 37.7 \pm 12.9$) (Fig 4). Although anecdotal, this observation reinforces the idea of an association of snorts with positive emotions.

2) Could snort production be modulated by the welfare state?

2.1) Comparison of snort production between populations. Considering only the pasture data, snort rates differed between the three populations (Kruskal Wallis test, $N_{\text{NC}} = 11$, $N_{\text{RSA}} = 19$, $N_{\text{RSB}} = 17$, chi-squared = 12.851, $df = 2$, $p = 0.001$). Post-hoc comparisons (including the Bonferroni corrections) showed that the snorting rate of the naturalistic horses was significantly higher than that of RSA ($p = 0.008$), but not RSB ($p = 0.23$) horses. Moreover, RSB horses produced more snorts than RSA horses ($p = 0.009$) (Fig 5A).

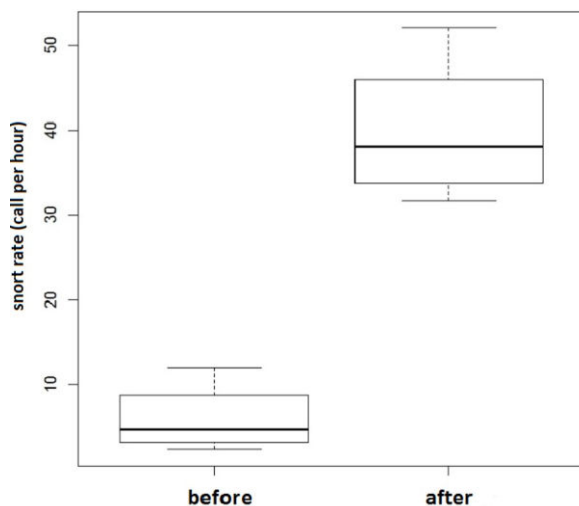


Fig 4. NC horses' snorting rate observed just before and after being transferred from a low resource to a high resource (grass) pasture.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g004>

The NC population emitted significantly more snorts than the riding school horses when data were pooled for the two schools (Mann-Whitney U-test, $N_{NC} = 11$, $N_{RS} = 36$, $W = 294$, $p = 0.01$) with almost twice as many snorts ($\mu = 12.8 \pm 8.3$; coefficients of intra-individual variation: 70.1% to 180.4%) than RSA and RSB horses taken together ($\mu = 7 \pm 4.6$; coefficients of intra-individual variation: 110.8% to 519.6%) (Fig 5B). Intra-individual variability was lower in the NC population compared to the two RS populations indicating an apparent more stable state in these individuals experiencing the same environment (pasture all year long) over days. In contrast, we noticed a lower inter-individual variability in both riding school populations compared to that in NC population in pasture (coefficients of variation: inter: $CV_{NC} = 65\%$, $CV_{RSA} = 54.2\%$, $CV_{RSB} = 57.2\%$). A possible group effect between naturalistic horses that experienced different types of resources according to their living pasture could occur. But we could not test it here since one sample was too small ($N = 2$) to be statistically relevant.

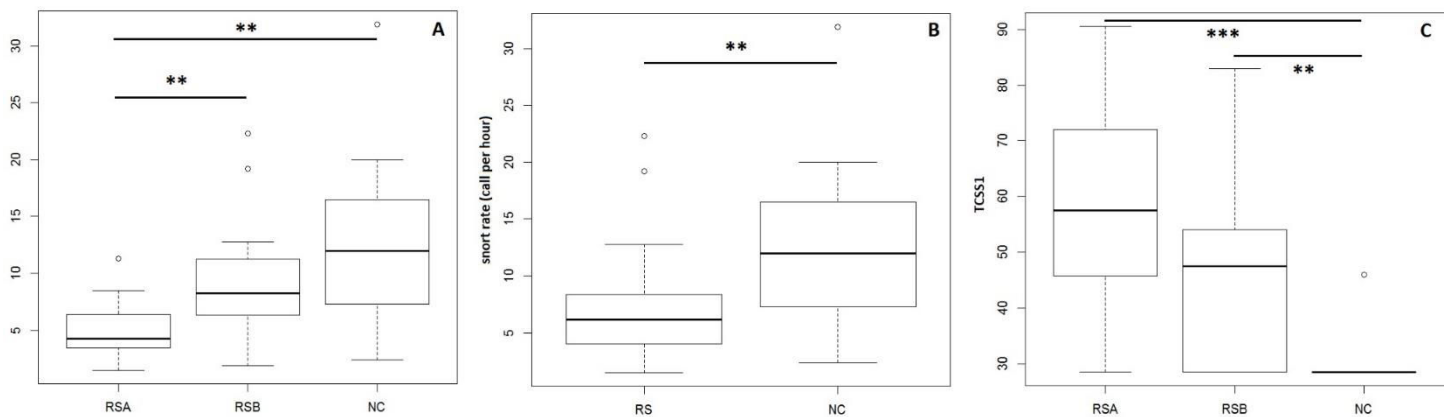


Fig 5. (A) The snorting rate observed in pasture according to the population of origin. (B) The snorting rate observed according to the type of the population, riding school horses and naturalistic horses. (C) The average of the TCSS 1 scores obtained by individuals according to the population of origin.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g005>

Interestingly, there was no difference between RSA and RSB snort rates when considering only the stall context (Mann Whitney tests, pasture: $N_{RSA} = 19$, $N_{RSB} = 17$, $W = 72$, $p = 0.004$; stall: $N_{RSA} = 19$, $N_{RSB} = 18$, $W = 144.5$, $p = 0.42$).

2.2 Comparison of the welfare state between populations. Globally at the whole population level, horses' Body Condition Scores (BCS) were between 2 and 4 ($\mu = 3 \pm 0.33$). Out of the 48 individuals, 19 horses had a round neck whereas 29 showed a hollow/flat neck shape. 21 individuals (43.7%) performed at least one SB/ARB in stall (Table 2). Moreover, over the three HHR tests, 20 horses (42.5%) amongst which 18 from RSs population showed at least once an aggressive reaction towards the experimenter. Horses spent $4.5 \pm 11.7\%$ of the time with ears in backward position while feeding in pasture. When in stall, the RS subjects were observed $22.1 \pm 24.6\%$ of the feeding time with backward ears and $3 \pm 0.04\%$ of the time facing a wall ($N = 14$ horses; 38.8%).

2.2.1 Body assessment. Horses' body condition differed significantly between sites (Kruskal Wallis test, $N_{NC} = 11$, $N_{RSA} = 19$, $N_{RSB} = 18$, Kruskal-Wallis chi-squared = 8.82, $df = 2$, $p = 0.01$). NC horses had a higher BCS score ($\mu_{NC} = 3.13 \pm 0.45$) than RSB horses ($\mu_{RSB} = 2.86 \pm 0.23$) (post hoc pairwise comparisons, $p = 0.038$). By contrast, no significant difference was found between NC and

RSA horses ($\mu_{RSA} = 3.07 \pm 0.30$) ($p = 0.73$), nor between the two different RS groups although there was a trend for RSA horses to be slightly bigger ($p = 0.06$).

2.2.2 Postural measures. There were more horses with round necks (NC = 8, RSA = 5, RSB = 6) and less with hollow/flat necks (NC = 3, RSA = 14, RSB = 12) in the naturalistic population compared to both RS schools pooled (Chi squared test, $N = 47$, $df = 1$, $\chi^2 = 4.88$, $p = 0.027$). More RSA horses had hollow/flat necks than round ones (Chi squared tests, $\chi^2 = 4.26$, $p < 0.05$).

Considering the ears positions recorded while feeding outside, RS horses spent $5.9 \pm 13.2\%$ of this time with the ears backwards whereas NC horses were never observed feeding with the ears in this position ($\mu = 0 \pm 0\%$). When considering the RS horses only, some differences appeared: RSA horses spent more time feeding with ears backward in stall (RSA: $31.9 \pm 28\%$; RSB: $10.6 \pm 14.1\%$) (Mann Whitney test, $N_1 = 19$, $N_2 = 18$, $W = 257$, $p = 0.008$), but not in pasture: $6.4 \pm 11\%$ of the time for RSA horses and $5.4 \pm 15.6\%$ of the time for RSB ones (MannWhitney U test, $N_1 = 19$, $N_2 = 17$, $W = 192$, $p = 0.29$).

2.2.3 Behavioural measures. Clear signs of altered welfare were observed in both riding schools with ten types of SB/ARB (Table 2) observed and many subjects performing one or more ($RS_A = 63.1\%$, $RS_B = 44.4\%$) of them. Moreover, 66.6 and 31.5% of the RSA and RSB

Table 2. SB/ARB observed during the study (see also Mills 2005).

SB/ARB behavioural description	Number of individuals involved
head tossing / nodding: vertical movements of head and neck	13
striking with forelimb: the horse hits the door or wall with one of its forelegs	4
box walking: repetitive tracing a route within the stable	1
cribbing / windsucking: the horse grasps a fixed object with its incisors, pulls backwards and draws air into its oesophagus	1
head movements (other than head tossing / nodding): movement of the head	5
tongue movements: movements of tongue, inside or outside the mouth	12
lips shivering: shivering of the lower lip	1
repetitive biting: biting of the same object in its environment (except the trough)	1
repetitive licking: licking of the same object in its environment (except the trough)	2
repetitive displacement of the saddle support on the stall's door	1

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.t002>

horses respectively displayed at least once an aggressive reaction towards the experimenter during the tests. In contrast, the leisure horses showed none of these abnormal and stereotypic behaviours. Moreover, only one aggressive behaviour was directed towards the experimenter by one NC horse.

2.2.4 Total chronic stress scores (TCSS). When comparing the TCSS1 scores obtained by individuals according to the three populations, it appeared that they significantly differed from each other (Kruskal Wallis test, $N_{NC} = 11$, $N_{RSA} = 19$, $N_{RSB} = 17$, $H = 21.265$, $df = 2$, $p < 0.0001$) with NC subjects having a quasi-null TCSS1 score (post hoc pairwise comparisons: NC/RSA: $p < 0.0001$; NC/RSB: $p < 0.001$) while no significant difference was found between the TCSS 1 scores of the two riding schools populations ($p = 0.27$) (Fig 5C).

Moreover the $TCSS_{RS}$ scores were lower in RSB than RSA: RSB individuals had a lower

$TCSS_{RS}$ score than the subjects studied in RSA (Mann Whitney test, $N_1 = 19$, $N_2 = 17$, $W = 238$, $p = 0.015$).

There was therefore a welfare gradient going from NC horses (best welfare) to RSB (intermediate) and then RSA (most altered welfare) (Fig 5C).

2.3 Linking snort production to welfare assessment. Body assesment showed that, while there was no correlation between BCS scores and snort rates (Spearman correlation, $N = 47$, $r = -0.039$, $p = 0.79$), the latter tended to vary according to neck shape with twice as many snorts in horses with round necks (11.24 ± 3.58) than in those with a hollow/flat neck ($\mu = 6.60 \pm 8.27$)

(Mann Whitney test, $N_{\text{round}} = 18$, $N_{\text{flat/deep}} = 29$, $W = 346$, $p = 0.06$).

Interestingly, we found a correlation between the snort production and the welfare scores. Indeed, snort rates collected in pasture (context common to all three populations) were negatively correlated to the TCSS1 (Spearman correlation, $N = 47$, $r = -0.41$, $p = 0.003$) (Fig 6).

Hence, the more horses emitted snorts, the more they were in a good welfare state. More precisely, the frequency of snorts produced in pasture was negatively correlated with the occurrence of aggressive behaviours during the human-horse relationship tests (Spearman correlation, $N = 47$, $r = -0.33$, $p = 0.02$) (Fig 7A) and the occurrence of SB/ARB (observed in stall) ($N = 47$, $r = -0.32$, $p = 0.02$). Again, the more horses emitted snorts, the less they were aggressive towards humans in the tests and the less they expressed SB/ARB behaviours (Fig 7B).

Moreover, the snort-welfare relationship was confirmed and strengthened when considering only the two RS populations: the lower the TCSS (combining postural and behavioural

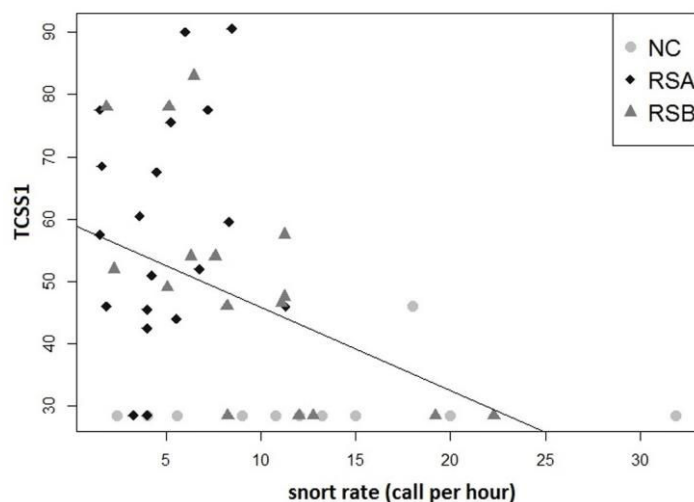


Fig 6. Correlation between the TCSS 1 score and the snorting rate of all individuals gathered.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g006>

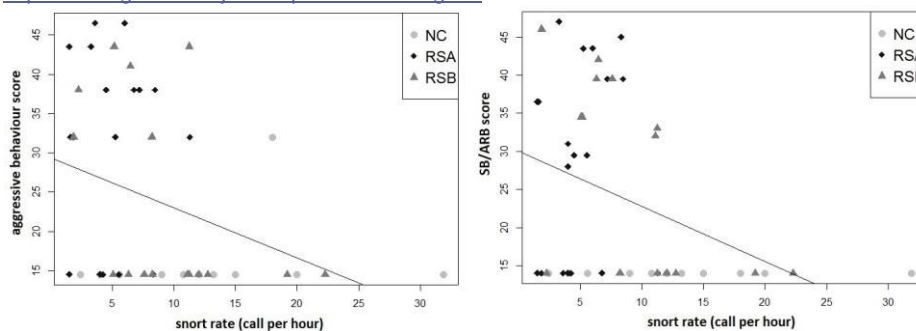


Fig 7. Correlation between snorting rate and particular TCSS1 score parameters: aggressive behaviours towards Human score (A), SB and ARB score (B).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898.g007>

measures), the higher the snort rate (Spearman correlation, $N = 36$, $r = -0.46$, $p = 0.004$). This correlation remained significant when running the comparison with only the data collected in pasture ($N = 36$, $r = -0.44$, $p = 0.007$), however it was less true (just a trend) with data collected in stalls ($N = 37$, $r = -0.28$, $p = 0.08$). Interestingly though, the snort rate in stalls was negatively correlated with the occurrence of aggressive behaviour towards human during the tests ($N = 37$, $r = -0.44$, $p = 0.005$) while the snort rate in pasture was negatively correlated with the percentage of time spent facing the wall in stall (Spearman correlation, $N = 36$, $r = -0.42$, $p = 0.01$).

Discussion

This study, which aimed at testing the potential interest of snorts as indicators of positive emotions, has revealed that 1) snort production is associated with more positive contexts (in pasture, while feeding) and states (with ears on forward position), 2) is less frequent in horses showing an altered welfare. These results provide a potential important tool as snorts appear as a possible reliable indicator of positive emotions which could help identify situations appreciated by horses. The results also indicate that positive emotions may not be measurable in unfavourable conditions independently of the animal chronic welfare state (ex: stall). However, animals in a better welfare state, appear to be more prone to produce them when the situation improves.

Given this array of results, it is clear that snorts cannot be merely considered as having a simple hygienic function of clearing the nostrils, expressed during no particular context nor in a specific arousal state [36,37,50]. Air conditions/dust cannot explain the present results as different horses in the same air conditions could differ in terms of snort production (e.g. correlation with welfare score). Moreover, one would then expect more snorts to be produced in the more dusty environment (ex: shavings of RSB's litter, dry hay) of the stall than in pasture, which is the exact reverse of what was observed in our study. Using preference tests, Lee *et al* [102] and Søndergaard *et al* [49] demonstrated that horses were more motivated to be in pastures rather than in stalls, especially if other horses were also present outdoors. Being positively influenced by this context is therefore a better explanation for the higher frequency of snorts in pastures. Moreover, snort production was also associated with more positive posture (ears forwards/sideways, reflecting a more positive state, e.g. [50]) and preferred activities such as foraging (grass or hay), or in a quiet observation, two activities reflecting relaxed quiet states [50]. The fact that horses living in different pastures produced different snort rates could be due to the different resources in their respective pasture. It would be interesting to confirm the transient aspect of snort production by comparing outdoor observations in good versus adverse weather conditions for example.

The chronic welfare state influences snort production. As already demonstrated in earlier studies, restrictions in spatial and social conditions at least play an active role in determining the welfare state of domestic horses (e.g. [60,62,71,86]), as can be the case also for working conditions (e.g. [57,59,80]). Here we found a welfare gradient from the stable outdoors leisure horses to the most restricted conditions of one riding school where horses went only occasionally out in unstable groups. Interestingly, the same gradient was found in snort rates recorded in pastures: the more altered the welfare is, the lower the snort rate. This was true also when particular parameters, such as aggressiveness towards humans or time spent in stall facing the wall, were considered. Horses with less dorsal problems, as reflected by their neck shape [81], produced also more snorts. Horses in good welfare state are more prone to experience positive emotions when given the chance [48] which does explain that they produce more snorts. However, snorts do indicate transient and not chronic states as no such differences were observed in the unfavourable condition of the single stall housing, known to lead to an altered welfare state (e.g. [60,71]).

Snorts might therefore be a very useful indicator of positive emotions. The search for acoustic markers of emotions is not new (*e.g.* horses: [38,58]; pigs: [103]; chicks: [104]) and many studies have assessed the intensity of the situation by counting distress or contact calls (*e.g.* horses: [105]; pigs: [13]; sheep and cattle: [106]). Most acoustic studies have thus concentrated on emotions' intensity (review in [107]), of a very high level for most of them. Conversely, very few studies have been demonstrating acoustic variations related to emotional valence. In horses, Briefer *et al* [29] proposed that whinnies' duration and whinnies' higher fundamental frequency (G0) encode valence; in rats, 50 kHz vocalizations have been proposed as markers of positive emotions [108]. Otherwise, studies on non-vocal signals are still scarce. Purrs have been broadly studied in felids and associated to positive social situations (review in [31]). This acoustic signal has been also reported in other species such as several primates: mouse lemurs [109], uakaris [110], ring tailed lemurs [111], mostly during positive social interactions (*e.g.* grooming) with a possible function of increasing tolerance; or during mother-infant interactions (*e.g.* prior to the beginning of suckling in squirrel monkeys: [112]). Snorts have been previously described in some perissodactyls during positive contexts, either while foraging (rhinos:[33,113]) or again during short distance communication between a mother and her young (while licking) as "an appeasement call" (tapirs: [34]). Kiley [37], in a detailed study on Ungulates vocalisations, proposed an acoustic gradient following an excitement gradient which included both non-vocal and vocal sounds. In this gradient from sigh to long whinny (high excitement), she proposed that the snort was closed to nickers (a vocalization associated with positive anticipation (Przewalski's horses: [114]; horses: [50]) and noted that "the closed mouth nicker and whinnies of the horse could be regarded as a further development of a voiced snort". Thus snort would embody a signal reflecting positive emotions of low intensity. Analogically, recently a neurophysiological study proposed that sighs could be partly the result of a normal breath transformed by an emotional input in rats [115]. Indeed, a high rate of sighs have been correlated with a release phase created after a sequence of electric shocks in this species [116]. Authors suggested that it would be used as a social calming signal to synchronise the emotional state of the group of conspecifics. Sigh has been also mentioned as a reflect of a relaxation state in humans [117].

To conclude, this study calls snort function into question. We propose that it would be indicating of a relaxation phase associated with positive emotions of low intensity and thus expressed even more by horses in a chronic good welfare state. However, our study does not totally allow to rule out the sanitary function of snort, since dust differences present in stall

and pasture contexts have not been examined in details, but the results show that this is unlikely to explain differences between individual horses. Further researches involving dusts' rate measures would be helpful to entirely determine the relative importance of this factor in snorts expression. It would also be important that a proper repertoire of the non-vocal sounds is promoted and becomes consensual between non-acoustic researchers on horses' emotions to avoid confusions between studies and interpretations. Finally, observations during working circumstances would be needed where breathing constraints due to exercise and emotions are mingling. In any case, these results lead us to believe that acoustic signals constitute a potential marker of positive emotions, suggesting a new breakthrough in research evaluation of positive emotional states in horses.

Supporting information

S1 Table. Original p values obtained after running the Mann Whitney tests comparing NC1 and NC2 data. (PDF)

S2 Table. The behavioural repertoire used for the study, adapted from a typical horse ethogram (McDonnell, 2003; Waring, 2003). (PDF)

S3 Table. Individuals's data collected in the present study. (PDF)

Acknowledgments

Authors are grateful to the riding school owners and staff for letting them observe the horses and for their help on site.

Author Contributions

Conceptualization: Mathilde Stomp, Maeïl Leroux, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Formal analysis: Mathilde Stomp, Maeïl Leroux, Marjorie Cellier, Se´verine Henry, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Funding acquisition: Se´verine Henry, Martine Hausberger.

Investigation: Mathilde Stomp, Maeïl Leroux.

Methodology: Mathilde Stomp, Maeïl Leroux, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Supervision: Se´verine Henry, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Validation: Mathilde Stomp, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Visualization: Mathilde Stomp, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

Writing – original draft: Mathilde Stomp, Maeïl Leroux, Marjorie Cellier, Se´verine Henry, Alban Lemasson, Martine Hausberger.

References

1. Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, Moe RO, Spruijt B, Keeling LJ, et al. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol Behav.* Elsevier; 2007; 92: 375–397. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.003> PMID: 17428510
2. Dantzer R. *Les e´motions.* Paris: Presses Universitaires de France. 1988: 121.
3. Bateson M, Matheson S. Performance on a categorisation task suggests that removal of environmental enrichment induces "pessimism" in captive European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Anim Welf.* 2007; 16: 33–36.
4. Spruijt BM, van den Bos R, Pijlman FTA. A concept of welfare based on reward evaluating mechanisms in the brain: anticipatory behaviour as an indicator for the state of reward systems. *Appl Anim Behav Sci.* Elsevier; 2001; 72: 145–171. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00204-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00204-5) PMID: 11278033
5. Feh C, de Mazie`res J. Grooming at a preferred site reduces heart rate in horses. *Anim Behav.* 1993; <https://doi.org/10.1006/anbe.1993.1309>
6. Normando S, Haverbeke A, Meers L, O´dberg FO, Iba´ñez Talego´n M, Bono G. Effect of Manual Imitation of Grooming on Riding Horses' Heart Rate in Different Environmental Situations. *Vet Res Commun.* Kluwer Academic Publishers; 2003; 27: 615–617. <https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000014230.52006.df> PMID: 14535480
7. Reimert I, Bolhuis JE, Kemp B, Rodenburg TB. Indicators of positive and negative emotions and emotional contagion in pigs. *Physiol Behav.* Elsevier; 2013; 109: 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.11.002> PMID: 23159725
8. Bergamasco L, Osella MC, Savarino P, Larosa G, Ozella L, Manassero M, et al. Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: Human–animal interaction effects. *Appl Anim Behav Sci.* Elsevier; 2010; 125: 56–68. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2010.03.002>
9. Pawluski J, Jego P, Henry S, Bruchet A, Palme R, Coste C, et al. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). van den Bos R, editor. *PLoS One.* Public Library of Science; 2017; 12: e0182257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182257> PMID: 28886020
10. Morme`de P, Andanson S, Aupe´rin B, Beerda B, Gue´mene´ D, Malmkvist J, et al. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav.* Elsevier; 2007; 92: 317–339. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.12.003> PMID: 17234221

11. Vinke CM, Van Den RB, Spruijt BM. Anticipatory activity and stereotypical behaviour in American mink (*Mustela vison*) in three housing systems differing in the amount of enrichments. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2004; 89: 145–161. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2004.06.002>
12. Moe RO, Bakken M, Kittilsen S, Kingsley-Smith H, Spruijt BM. A note on reward-related behaviour and emotional expressions in farmed silver foxes (*Vulpes vulpes*)—Basis for a novel tool to study animal welfare. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2006; 101: 362–368. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2006.02.004>
13. Leliveld LMC, Du'pjan S, Tuchscherer A, Puppe B. Behavioural and physiological measures indicate subtle variations in the emotional valence of young pigs. *Physiol Behav. Elsevier*; 2016; 157: 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.02.002> PMID: 26850291
14. Fureix C, Gorecka-Bruzda A, Gautier E, Hausberger M. Cooccurrence of Yawning and Stereotypic Behaviour in Horses (*Equus caballus*). *ISRN Zool. 2011*; 10. <https://doi.org/10.5402/2011/271209>
15. Peters SM, Bleijenberg EH, van Dierendonck MC, van der Harst JE, Spruijt BM. Characterization of anticipatory behaviour in domesticated horses (*Equus caballus*). *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2012; 138: 60–69. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2012.01.018>
16. Rees PA. Some Preliminary Evidence of the Social Facilitation of Mounting Behavior in a Juvenile Bull Asian Elephant (*Elephas maximus*). *J Appl Anim Welf Sci. Lawrence Erlbaum Associates, Inc.*; 2004; 7: 49–58. https://doi.org/10.1207/s15327604jaws0701_3 PMID: 15066770
17. Quirke T, O'Riordan RM, Zuur A. Factors influencing the prevalence of stereotypical behaviour in captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2012; 142: 189–197. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2012.09.007>
18. Anderson C, Yngvesson J, Boissy A, Uvna's-Moberg K, Lidfors L. Behavioural expression of positive anticipation for food or opportunity to play in lambs. *Behav Processes. Elsevier*; 2015; 113: 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2015.02.003> PMID: 25659525
19. Hausberger M, Fureix C, Bourjade M, Wessel-Robert S, Richard-Yris M-A. On the significance of adult play: what does social play tell us about adult horse welfare? 2012; <https://doi.org/10.1007/s00114012-0902-8> PMID: 22402927
20. Blois-Heulin C, Rochais C, Camus S, Fureix C, Lemasson A, Lunel C, et al. Animal Welfare: Could Adult Play be a False Friend? *Anim Behav Cogn. 2015*; 156–185. <https://doi.org/10.12966/abc.05.04.2015>
21. Spinka M, Newberry RC, Bekoff M. *Mammalian Play: Training for the Unexpected. The Quarterly Review of Biology. The University of Chicago Press*; 2001. pp. 141–168. <https://doi.org/10.2307/2664002> PMID: 11409050
22. Palagi E, Paoli T, Tarli SB. Short-Term Benefits of Play Behavior and Conflict Prevention in *Pan paniscus*. *Int J Primatol. Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers*; 2006; 27: 1257–1270. <https://doi.org/10.1007/s10764-006-9071-y>
23. Finlayson K, Lampe JF, Hintze S, Wu'rbel H, Melotti L. Facial Indicators of Positive Emotions in Rats. Hillmann E, editor. *PLoS One. Public Library of Science*; 2016; 11: e0166446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166446> PMID: 27902721
24. Panksepp J, Burgdorf J. "Laughing" rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiol Behav. Elsevier*; 2003; 79: 533–547. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00159-8) PMID: 12954448
25. Rochais C, Fureix C, Lesimple C, Hausberger M. Lower attention to daily environment: a novel cue for detecting chronic horses' back pain? *Sci Rep. Nature Publishing Group*; 2016; 6: 20117. <https://doi.org/10.1038/srep20117> PMID: 26823123
26. Soltis J, Blowers TE, Savage A. Measuring positive and negative affect in the voiced sounds of African elephants (*Loxodonta africana*). *J Acoust Soc Am. Acoustical Society of America*; 2011; 129: 1059–1066. <https://doi.org/10.1121/1.3531798> PMID: 21361461
27. Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina E V., Kharlamova A V., Trut LN. Sign and strength of emotional arousal: vocal correlates of positive and negative attitudes to humans in silver foxes (*Vulpes vulpes*) [Internet]. *Behaviour. Brill*; 2010. pp. 1713–1736. <https://doi.org/10.2307/25799782>
28. Anikin A, Bååth R, Persson T. Human Non-linguistic Vocal Repertoire: Call Types and Their Meaning. *J Nonverbal Behav. Springer US*; 2017; 1–28. <https://doi.org/10.1007/s10919-017-0268-x>
29. Briefer EF, Mairrot A-L, Mandel R, Freymond SB, Bachmann I, Hillmann E. Segregation of information about emotional arousal and valence in horse whinnies. *Sci Rep. Nature Publishing Group*; 2015; 4: 9989. <https://doi.org/10.1038/srep09989> PMID: 25897781
30. Sissom DEF, Rice DA, Peters G. How cats purr. *J Zool. Blackwell Publishing Ltd*; 1991; 223: 67–78. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1991.tb04749.x>
31. Peters G. Purring and similar vocalizations in mammals. *Mamm Rev. Blackwell Science, Ltd*; 2002; 32: 245–271. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2002.00113.x>
32. Bradshaw JWS, Casey R, Brown S. *The Behaviour of the Domestic Cat. CABI*; 2012.
33. Policht R, Tomasova K, Holeckova D, Frynta D. The vocal repertoire in Northern white rhinoceros *ceratotherium simum cottoni* as recorded in the last surviving herd. *Bioacoustics. Taylor & Francis Group*; 2008; 18: 69–96. <https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753591>
34. Montenegro OL. The behavior of Lowland Tapir (*Tapirus Terrestris*) at a natural mineral lick in the peruvian amazon. 1998;
35. Hunsaker D, Hahn TC. Vocalization of the South American tapir, *Tapirus terrestris*. *Anim Behav. Academic Press*; 1965; 13: 69–74. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(65\)90073-4](https://doi.org/10.1016/0003-3472(65)90073-4)

36. Yeon SC. Acoustic communication in the domestic horse (*Equus caballus*). *J Vet Behav Clin Appl Res*. Elsevier; 2012; 7: 179–185. <https://doi.org/10.1016/J.JVEB.2011.08.004>
37. Kiley M. The Vocalizations of Ungulates, their Causation and Function. *Z Tierpsychol*. Blackwell Publishing Ltd; 1972; 31: 171–222. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1972.tb01764.x> PMID: 4674022
38. Durier V, Henry S, Sankey C, Sizun J, Hausberger M. Locomotor Inhibition in Adult Horses Faced to Stressors: A Single Postpartum Experience May be Enough! *Front Psychol*. Frontiers; 2012; 3: 442. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00442> PMID: 23112783
39. Lemasson A, Remeuf K, Hausberger M. Tenseness relaxed by vocalizing, illustrated by horses (*Equus caballus*) whinnying. *J Comp Psychol*. 2015; 129: 311–315. <https://doi.org/10.1037/a0039032> PMID: 25915192
40. Lemasson A, Remeuf K, Trabalon M, Cuir F, Hausberger M. Mares Prefer the Voices of Highly Fertile Stallions. Bolhuis JJ, editor. *PLoS One*. Public Library of Science; 2015; 10: e0118468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118468> PMID: 25714814
41. Briefer Freymond S, Briefer EF, Zollinger A, Gindrat-von Allmen Y, Wyss C, Bachmann I. Behaviour of horses in a judgment bias test associated with positive or negative reinforcement. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2014; 158: 34–45. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2014.06.006>
42. Ločkenec S, Reese S, Erhard M, Woħr A-C. Pasturing in herds after housing in horseboxes induces a positive cognitive bias in horses. *J Vet Behav Clin Appl Res*. Elsevier; 2016; 11: 50–55. <https://doi.org/10.1016/J.JVEB.2015.11.005>
43. Douglas C, Bateson M, Walsh C, Be'due' A, Edwards SA. Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2012; 139: 65–73. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2012.02.018>
44. Salmeto AL, Hymel KA, Carpenter EC, Briot BO, Bateson M, Sufka KJ. Cognitive bias in the chick anxiety–depression model. *Brain Res*. Elsevier; 2011; 1373: 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.12.007> PMID: 21156165
45. Wichman A, Keeling LJ, Forkman B. Cognitive bias and anticipatory behaviour of laying hens housed in basic and enriched pens. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2012; 140: 62–69. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2012.05.006>
46. Destrez A, Deiss V, Le'vy F, Calandreau L, Lee C, Chaillou-Sagon E, et al. Chronic stress induces pessimistic-like judgment and learning deficits in sheep. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2013; 148: 28–36. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2013.07.016>
47. Burman OHP, Parker R, Paul ES, Mendl M. A spatial judgement task to determine background emotional state in laboratory rats, *Rattus norvegicus*. *Anim Behav*. Academic Press; 2008; 76: 801–809. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2008.02.014>
48. Henry S, Fureix C, Rowberry R, Bateson M, Hausberger M. Do horses with poor welfare show “pessimistic” cognitive biases? *Sci Nat*. Springer Berlin Heidelberg; 2017; 104: 8. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1429-1> PMID: 28083632
49. Søndergaard E, Bak Jensen M, Nicol CJ. Motivation for social contact in horses measured by operant conditioning. *Appl Anim Behav Sci*. 2011; 132: 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.04.007>
50. Waring GH. Horse behavior. The behavioral traits and adaptations of domestic and wild horses, including ponies. *Horse Behav Trait Adapt Domest wild horses, Incl ponies*. Noyes Publications; 2003;
51. Feist JD, McCullough DR. Behavior Patterns and Communication in Feral Horses. *Z Tierpsychol*. Blackwell Publishing Ltd; 2010; 41: 337–371. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1976.tb00947.x>
52. Tyler SJ. The Behaviour and Social Organization of the New Forest Ponies. *Anim Behav Monogr*. Academic Press; 1972; 5: 87–196. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(72\)90003-6](https://doi.org/10.1016/0003-3472(72)90003-6)
53. Hafez ESE. The behaviour of domestic animals. *Behav Domest Anim*. London: Balliere, Tindall & Cox Ltd; 1962;
54. Lansade L, Bouissou M-F, Erhard HW. Fearfulness in horses: A temperament trait stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2008; 115: 182–200. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2008.06.011>
55. Christensen JW. Object habituation in horses: The effect of voluntary versus negatively reinforced approach to frightening stimuli. *Equine Vet J*. 2013; 45: 298–301. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00629.x> PMID: 23009205
56. Visser EK, VanDierendonck M, Ellis AD, Rijkssen C, Van Reenen CG. A comparison of sympathetic and conventional training methods on responses to initial horse training. *Vet J*. W.B. Saunders; 2009; 181: 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.009> PMID: 19375363
57. Hausberger M, Muller C, Lunel C. Does Work Affect Personality? A Study in Horses. Brosnan SF, editor. *PLoS One*. Public Library of Science; 2011; 6: e14659. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014659> PMID: 21347405
58. Wolff A, Hausberger M, Le Scolan N. Experimental tests to assess emotionality in horses. *Behav Processes*. Elsevier; 1997; 40: 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(97\)00784-5](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(97)00784-5) PMID: 24895882
59. Lesimple C, Fureix C, Menguy H, Hausberger M. Human Direct Actions May Alter Animal Welfare, a Study on Horses (*Equus caballus*). *PLoS One*. 2010; 5: e10257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010257> PMID: 20442766
60. Lesimple C, Poissonnet A, Hausberger M. How to keep your horse safe? An epidemiological study about management practices. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2016; 181: 105–114. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2016.04.015>
61. Gillham SB, Dodman NH, Shuster L, Kream R, Rand W. The effect of diet on cribbing behavior and plasma β -endorphin in horses. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 1994; 41: 147–153. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(94\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0168-1591(94)90019-1)

62. McGreevy PD, Cripps PJ, French NP, Green LE, Nicol CJ. Management factors associated with stereotypic and redirected behaviour in the Thoroughbred horse. *Equine Vet J. Blackwell Publishing Ltd*; 1995; 27: 86–91. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1995.tb03041.x> PMID: 7607155
63. Redbo I, Redbo-Torstensson P, O'berg FO, Hedendahl A, Holm J. Factors affecting behavioural disturbances in race-horses. *Anim Sci. Cambridge University Press*; 1998; 66: 475–481. <https://doi.org/10.1017/S1357729800009644>
64. Nicol C. Understanding equine stereotypies. *Equine Vet J.* 1999; 31: 20–25. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb05151.x>
65. Heleski C, Shelle A, Nielsen B, Zanella A. Influence of housing on weanling horse behavior and subsequent welfare. *Appl Anim Behav Sci.* 2002; 78: 291–302.
66. Waters AJ, Nicol CJ, French NP. Factors influencing the development of stereotypic and redirected behaviours in young horses: findings of a four year prospective epidemiological study. *EQUINE Vet J Equine vet J.* 2002; 34: 572–579. <https://doi.org/10.2746/042516402776180241> PMID: 12357996
67. Bachmann I, Audig L, Stauffacher M. Risk factors associated with behavioural disorders of crib-biting, weaving and box-walking in Swiss horses. *EQUINE Vet J Equine vet J.* 2003; 35: 158–163. <https://doi.org/10.2746/042516403776114216> PMID: 12638792
68. Cooper JJ, Albentosa MJ. Behavioural adaptation in the domestic horse: potential role of apparently abnormal responses including stereotypic behaviour. *livestock Prod Sci.* 2005; 92: 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.11.017>
69. Mills DS, McDonnell SM. The domestic horse: the origins, developments, and management of its behaviour [Internet]. Cambridge University Press; 2005. Available: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01319153/>
70. Raabymagle P, Ladewig J. Lying behavior in horses in relation to box size. *Equine Vet Sci.* 2006; 26: 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2005.11.005>
71. Kathalijne Visser E, Ellis AD, Van Reenen CG. The effect of two different housing conditions on the welfare of young horses stabled for the first time. *Appl Anim Behav Sci.* 2008; 114: 521–533. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.03.003>
72. Altmann J. *Observational Study of Behavior: Sampling Methods* [Internet]. Behaviour. Brill; 1974. pp. 227–267. <https://doi.org/10.2307/4533591> PMID: 4597405
73. Ashley FH, Waterman-Pearson AE, Whay HR. Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: application to clinical practice and future studies. *Equine Vet J. Blackwell Publishing Ltd*; 2005; 37: 565–575. <https://doi.org/10.2746/042516405775314826> PMID: 16295937
74. Hausberger M, Fureix C, Lesimple C. Detecting horses' sickness: In search of visible signs. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2016; 175: 41–49. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2015.09.005>
75. Sankey C, Richard-Yris M-A, Henry S, Fureix C, Nassur F, Hausberger M. Reinforcement as a mediator of the perception of humans by horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn.* 2010; 13: 753–765. <https://doi.org/10.1007/s10071-010-0326-9> PMID: 20490592
76. Ali ABA, El Sayed MA, Matoock MY, Fouad MA, Heleski CR. A welfare assessment scoring system for working equids—A method for identifying at risk populations and for monitoring progress of welfare enhancement strategies (trialed in Egypt). *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2016; 176: 52–62. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2015.12.001>
77. Reefmann N, Bu'tikofer Kaszàs F, Wechsler B, Gyax L. Ear and tail postures as indicators of emotional valence in sheep. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2009; 118: 199–207. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2009.02.013>
78. Arnaud G, Dubroeuq H, Rivot D. *Notation de l'état corporel des chevaux de selle et de sport*. Inra, Institut du cheval—Institut de l'Élevage P, editor. 1997.
79. Fureix C, Hausberger M, Seneque E, Morisset S, Baylac M, Cornette R, et al. Geometric morphometrics as a tool for improving the comparative study of behavioural postures. *Naturwissenschaften.* 2011; 98: 583. <https://doi.org/10.1007/s00114-011-0803-2> PMID: 21573691
80. Lesimple C, Fureix C, Aube' L, Hausberger M. Detecting and Measuring Back Disorders in Nonverbal Individuals: The Example of Domestic Horses. *Anim Behav Cogn.* 2016; 3: 159–179. <https://doi.org/10.12966/abc.05.08.2016>
81. Lesimple C, Fureix C, De Margerie E, Se'neque E, Menguy H, Hausberger M. Towards a Postural Indicator of Back Pain in Horses (*Equus caballus*). *PLoS One.* 2012; 7: e44604. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044604> PMID: 22970261
82. Mason G, Clubb R, Latham N, Vickery S. Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2007; 102: 163–188. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2006.05.041>
83. Mason G, Rushen J. Stereotypic animal behaviour: fundamentals and applications to welfare. Mason G, Rushen J, editors. Wallingford: CABI; 2008. <https://doi.org/10.1079/9780851990040.0000>
84. Hausberger M, Gautier E, Mu'ller C, Jego P. Lower learning abilities in stereotypic horses. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2007; 107: 299–306. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2006.10.003>
85. Benhajali H, Ezzaouia M, Lunel C, Charfi F, Hausberger M. Stereotypic behaviours and mating success in domestic mares. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2014; 153: 36–42. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2014.01.002>
86. Cooper JJ, McDonald L, Mills DS. The effect of increasing visual horizons on stereotypic weaving: implications for the social housing of stabled horses. *Appl Anim Behav Sci. Elsevier*; 2000; 69: 67–83. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00115-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00115-5) PMID: 10856785

87. Benhajali H, Richard-Yris M-A, Leroux M, Ezzaouia M, Charfi F, Hausberger M. A note on the time budget and social behaviour of densely housed horses: A case study in Arab breeding mares. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2008; 112: 196–200. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2007.08.007>
88. Lesimple C, Hausberger M. How accurate are we at assessing others' well-being? The example of welfare assessment in horses. *Front Psychol*. Frontiers Media SA; 2014; 5: 21. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00021> PMID: 24478748
89. Fureix C, Menguy H, Hausberger M. Partners with Bad Temper: Reject or Cure? A Study of Chronic Pain and Aggression in Horses. Giurfa M, editor. *PLoS One*. Public Library of Science; 2010; 5: e12434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012434> PMID: 20865160
90. Fureix C, Bourjade M, Henry S, Sankey C, Hausberger M. Exploring aggression regulation in managed groups of horses *Equus caballus*. *Appl Anim Behav Sci*. 2012; 138: 216–228. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.02.009>
91. Rivera E, Benjamin S, Nielsen B, Shelle J, Zanella AJ. Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Appl Anim Behav Sci*. 2002; 78: 235–352.
92. Hausberger M, Roche H, Henry S, Visser EK. A review of the human–horse relationship. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2008; 109: 1–24. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2007.04.015>
93. Hausberger M, Muller C. A brief note on some possible factors involved in the reactions of horses to humans. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2002; 76: 339–344. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00016-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00016-3)
94. Fureix C, Jegó P, Sankey C, Hausberger M. How horses (*Equus caballus*) see the world: humans as significant “objects.” *Anim Cogn*. Springer-Verlag; 2009; 12: 643–654. <https://doi.org/10.1007/s10071009-0223-2> PMID: 19381698
95. Rochais C, Henry S, Hausberger M. “Hay-bags” and “Slow feeders”: Testing their impact on horse behaviour and welfare. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2018; 198: 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.09.019>
96. Henry S, Richard-Yris M-A, Hausberger M. Influence of various early human–foal interferences on subsequent human–foal relationship. *Dev Psychobiol*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2006; 48: 712–718. <https://doi.org/10.1002/dev.20189> PMID: 17111402
97. Henry S, Hemery D, Richard M-A, Hausberger M. Human–mare relationships and behaviour of foals toward humans. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2005; 93: 341–362. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2005.01.008>
98. Fureix C, Je´go P, Coste C, Hausberger M. Indicateurs de bien-être/mal-être chez le cheval: une synthèse. *Les Haras Nationaux*; 2010; 111–112. Available: <https://hal-univ-rennes1.archivesouvertes.fr/hal-01319037/>
99. Gleerup KB, Lindegaard C. Recognition and quantification of pain in horses: A tutorial review. *Equine Vet Educ*. 2016; 28: 47–57. <https://doi.org/10.1111/eve.12383>
100. Siegel S, Castellan J. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2nd ed. McGraw-Hill, editor. New York; 1988.
101. Barlow G. Ethological units of behaviour. In: University of Chicago press, editor. *The central nervous system and fish behaviour*. D.Ingle. Chicago; 1968. pp. 217–232.
102. Lee J, Floyd T, Erb H, Houpt K. Preference and demand for exercise in stabled horses. *Appl Anim Behav Sci*. 2011; 130: 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.01.001>
103. Tallet C, Linhart P, Policht R, Hammerschmidt K, Šimeček P, Kratinova P, et al. Encoding of Situations in the Vocal Repertoire of Piglets (*Sus scrofa*): A Comparison of Discrete and Graded Classifications. Reby D, editor. *PLoS One*. Public Library of Science; 2013; 8: e71841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071841> PMID: 23967251
104. Marx G, Leppelt J, Ellendorff F. Vocalisation in chicks (*Gallus gallus dom.*) during stepwise social isolation. *Appl Anim Behav Sci*. 2001; 75: 61–74.
105. McCall CA, Potter GD, Kreider JL. Locomotor, vocal and other behavioral responses to varying methods of weaning foals. *Appl Anim Behav Sci Elsevier Sci Publ BV*. 1985; 14: 27–35.
106. Hemsworth PH, Rice M, Karlen MG, Calleja L, Barnett JL, Nash J, et al. Human–animal interactions at abattoirs: Relationships between handling and animal stress in sheep and cattle. *Appl Anim Behav Sci*. Elsevier; 2011; 135: 24–33. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2011.09.007>
107. Briefer EF. Vocal expression of emotions in mammals: mechanisms of production and evidence. Le Comber S, editor. *J Zool*. 2012; 288: 1–20. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2012.00920.x>
108. Burgdorf J, Panksepp J, Moskal JR. Frequency-modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations: a tool for uncovering the molecular substrates of positive affect. *Neurosci Biobehav Rev*. Pergamon; 2011; 35: 1831–1836. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.11.011> PMID: 21144859
109. Zimmermann E. *Acoustic Communication in Nocturnal Prosimians. Creatures of the Dark*. Boston, MA: Springer US; 1995. pp. 311–330. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2405-9_19
110. Fontaine R. The uakaris, genus *Cacajao*. *Ecol Behav Neotrop Primates*. Academia Brasileira de Ciências; 1981; 443–493.
111. Macedonia JM. *The Vocal Repertoire of the Ringtailed Lemur (Lemur catta)*. Folia Primatol. Karger Publishers; 1993; 61: 186–217. <https://doi.org/10.1159/000156749> PMID: 7959437
112. Winter P, Ploog D, Latta J. Vocal repertoire of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*), its analysis and significance. *Exp Brain Res*. Springer-Verlag; 1966; 1: 359–384. <https://doi.org/10.1007/BF00237707> PMID: 4958770

113. Linn SN, Boeer M, Scheumann M. First insights into the vocal repertoire of infant and juvenile Southern white rhinoceros. Sakata JT, editor. PLoS One. Public Library of Science; 2018; 13: e0192166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192166> PMID: 29513670
114. Maigrot A-L, Hillmann E, Anne C, Briefer EF. Vocal expression of emotional valence in Przewalski's horses (*Equus przewalskii*). Sci Rep. Nature Publishing Group; 2017; 7: 8779. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09437-1> PMID: 28821880
115. Li P, Janczewski WA, Yackle K, Kam K, Pagliardini S, Krasnow MA, et al. The peptidergic control circuit for sighing. Nature. Nature Publishing Group; 2016; 530: 293–297. <https://doi.org/10.1038/nature16964> PMID: 26855425
116. Soltysik S, Jelen P. In rats, sighs correlate with relief. *Physiol Behav*. Elsevier; 2005; 85: 598–602. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.06.008> PMID: 16038951
117. McClernon FJ, Westman EC, Rose JE. The effects of controlled deep breathing on smoking withdrawal symptoms in dependent smokers. *Addict Behav*. 2004; 29: 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2004.02.005> PMID: 15135559

Synthèse de l'article 6

Question

De nombreux travaux ont déjà démontré, chez l'Homme et chez l'animal, un encodage vocal de l'état émotionnel, identifiable notamment via des variations de la structure acoustique des signaux selon l'intensité ou la valence des émotions exprimées. Cependant, nous connaissons encore peu de choses concernant la potentielle expression acoustique des émotions positives, que ce soit pour les signaux acoustiques vocaux ou non-vocaux. Seules quelques études récentes ont suggéré chez plusieurs espèces d'ongulés que le « snort » (*i.e.* son non-vocal produit par l'expiration de l'air par les naseaux) pouvait être un indicateur fiable d'un état interne positif. Chez le cheval, nous avons pu mettre en évidence que les ébrouements étaient indicateurs d'émotions positives (article 5). Par ailleurs, des données préliminaires, nous laissaient à penser l'existence d'une variation structurelle entre différents ébrouements selon la présence ou non de pulsations. Nous avons dès lors émis l'hypothèse que la structure acoustique des ébrouements pouvait varier en fonction de l'état émotionnel immédiat de l'individu.

Méthodes

Les ébrouements de 20 chevaux de centre équestre ont été enregistrés et ensuite analysés à l'aide du logiciel de bioacoustique ANA. Un échantillon de ces sons a été également diffusé à 20 participants afin de tester s'il était possible de discriminer à l'oreille les deux types présumés d'ébrouement (*i.e.* pulsé et non pulsé). Des observations du contexte environnemental (box/pré), ainsi que de la position des oreilles de l'individu émetteur (reflet de son état interne immédiat), ont été conduites afin de comparer la distribution des deux sous-types d'ébrouement en fonction de l'état émotionnel des chevaux.

Résultats

Tout d'abord, l'analyse bioacoustique a permis de confirmer la présence de deux sous-catégories d'ébrouements, discernables par la présence ou non d'une structure vibrée. De plus, l'expérience de playbacks réalisée chez des sujets humains nous a permis de confirmer la classification établie : tous ont été capables de clairement différencier à l'oreille les deux sous-types d'ébrouements. Par ailleurs, nos résultats semblent indiquer que les deux sous-types d'ébrouement étaient préférentiellement observés en contexte positif. Cependant, il est apparu que les ébrouements de type pulsé étaient d'autant plus associés à une situation hautement positive pour les individus (*i.e.* au pré et les oreilles en avant).

Conclusion

Les deux sous-types d'ébrouement semblent refléter différentes intensités d'états émotionnels positifs chez le cheval. A l'instar de certains signaux acoustiques produits chez certaines espèces de primates ou de félins, il semblerait qu'une variation de l'état interne de l'individu soit accompagnée d'une variation de certains paramètres acoustiques de la production sonore, comme ici la présence de vibrations (ce qui n'est pas sans rappeler les ronronnements bien connus chez les félins). Cette étude constitue une avancée dans l'identification d'indicateurs d'émotions positives chez le cheval, et plus globalement concernant la compréhension de l'encodage des émotions dans les signaux acoustiques.

Snort structure codes for positive emotions in horses

Mathilde Stomp^{1*}, Maël Leroux¹, Marjorie Cellier¹, Séverine Henry¹, Martine Hausberger², Alban Lemasson¹

1 Univ Rennes, Normandie Univ, CNRS, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, F-35380 Paimpont, France


2 CNRS, Univ Rennes, Normandie Univ, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, F-35380 Paimpont, France

*Corresponding author

Email: mathilde.stomp@univ-rennes1.fr



Snort acoustic structure codes for positive emotions in horses

Mathilde Stomp¹  & Maël Leroux¹ & Marjorie Cellier¹ & Séverine Henry¹ & Martine Hausberger¹ & Alban Lemasson¹

Received: 16 July 2018 / Revised: 22 August 2018 / Accepted: 3 September 2018
Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

While the vocal coding of human and animal internal states has been widely studied, the possible acoustic expression of Bpositive^ emotions remains poorly known. Recent studies suggest that snorts (non-vocal sounds produced by the air expiration through the nostrils) appear to be reliable indicators of positive internal states in several ungulate species. Here, we hypothesised in horses that the acoustic structure of the snort could vary with the subjects' current emotional state. Indeed, a preliminary sound analysis of snorts let us suggest structure variations related to the presence of pulsations. We recorded snorts from 20 horses living in a riding center. Auditory playbacks run with 20 humans first confirmed the existence of two snort subtypes, i.e. one pulsed and one non-pulsed. Observations were then conducted to compare the distribution of these two subtypes according to the location (stall/pasture) of the signaller as a contextual determinant of its internal state and to its ears' position as a reflection of its emotional state. We found that both subtypes were preferentially observed in positive contexts, but that pulsed snorts were even more associated with highly appreciated situations (in pasture and with ears forward). This study is a step further in the identification of indicators of positive emotions in horses and more generally in the understanding of the acoustic emotions' coding.

Keywords Snort . Unvoicedsignal . Pulsation . Positive emotion . Bioacoustics . Horse

Introduction

Better defining how an animal feels on a daily basis is today a matter of absolute importance, especially from a welfare point of view. Emotions are defined as multifaceted phenomena with neuronal, physiological, behavioural, cognitive and subjective (affective) aspects (Désiré et al. 2002). But the very nature of emotions, composed of two independent dimensions (i.e. valence and arousal), makes this assessment particularly difficult. Indeed, when analysing the emotional reactions of an animal, it is tricky to isolate the distinct components of both valence (i.e. positive or negative) and arousal (e.g. low or high). Besides, positive emotions, as they are more complex to evaluate, have received little attention until recently. Taken

Communicated by: Sven Thatje

all together, this results in a high proportion of studies that focused on responses to emotions mainly qualified by high arousal and negative valence (e.g. fear, pain, stress) (review in Boissy et al. 2007; Briefer 2012) while reliable physiological and behavioural indicators of positive emotions are still lacking to date (Boissy et al. 2007). Actually, the ambiguity that lies in some indicators previously suggested as potential candidates (e.g. expression of play (Blois-Heulin et al. 2015); low salivary cortisol concentration (Reimert et al. 2013)) makes the task even more delicate to achieve and leads to an urgent need for new reliable indicators of positive emotions. Another challenge is that valence and arousal are intermingled components and it may appear difficult to study valence contrasts while maintaining similar arousal. Moreover, in most studies, the supposed positive emotions are induced through specific experimental settings built by the authors without a real assessment of the animals' perception of this artificial situation. One can argue therefore that focusing more on spontaneous behaviours may be a more reliable way to further investigate indicators of positive emotions.

It is generally considered that spontaneous acoustic signals, particularly in non-human mammals, constitute a real expression of the senders' internal emotional state notably because

* Mathilde Stomp
mathilde.stomp@univ-rennes1.fr

¹ CNRS, EthoS (Éthologie animale et humaine), Univ Rennes, Normandie Univ, UMR 6552, F-35380 Paimpont, France

of a predominant role of brain limbic structures (Papoušek et al. 1992; Seyfarth and Cheney 2003). The link between acoustics and emotions has been explored in numerous studies (e.g. Morton 1977; Jürgens 1979; Fichtel et al. 2001; Briefer 2012) and authors have made interesting progresses in the identification of parameters of voiced signals coding for arousal level but less for emotional valence (Manteuffel and Schön 2002; Siebert et al. 2011; Lemasson et al. 2012). For example, either the rates of some call types (e.g. distress and alarm call in calves (Thomas et al. 2001) and silver foxes (Gogoleva et al. 2010)) or the variation in some acoustic parameters of the call such as an increased duration (e.g. pigs (Puppe et al. 2005; von Borell et al. 2009) and sheep (Sèbe et al. 2012)) or an increase of fundamental frequency (e.g. rats (Brudzynski 2007), Japanese macaques (Sugiura 2007), and sheep (Sèbe et al. 2012)) have been found to be good indicators of arousal level in negative emotions. However, studies that found acoustic variations associated with positive states (e.g. ultrasonic vocalisations in rats (Knutson et al. 1998; Panksepp and Burgdorf 2003), barks in piglets (Newberry et al. 1988; Reimert et al. 2013), decrease of the call duration in dogs' growls (Taylor et al. 2009) and in horses' whinnies (Briefer et al. 2015), increase of the amplitude range in dogs' barks (Yin and McCowan 2004), decrease of the mean fundamental frequency (G0) in horses whinnies (Briefer et al. 2015)) are still scarce.

Among acoustic signals, unvoiced emissions have surprisingly received very little attention so far. Nevertheless, some authors have recently hypothesised that unvoiced signals, as in humans (Boiten et al. 1994), can also be related to the internal state of animals with notably promising findings with regard to positive emotional aspects. For instance, purr (i.e. a tonal fluttering sound made by some species) has been shown to be produced during positive social interactions (felids (Peters 2002; Bradshaw et al. 2012), mouse lemurs (Zimmermann 1995; Scheumann et al. 2007), ring tailed lemurs (Macedonia 1993)); snort (i.e. a more or less pulsed sound produced by nostril vibrations while expelling the air) has been observed in individuals while

foraging (rhinos (Policht et al. 2008; Linn et al. 2018)), resting (raccoons (Sieber 1984)) or engaged in close social contacts (tapirs (Montenegro 1998)). All these data suggest a link between specific unvoiced signals and a relaxation state. Interestingly, a physical trait shared by snorts and purrs can be found as they are both composed of staccato vibrations that may involve in the relaxation process. Indeed, the presence of rhythmic staccato breathing in chimpanzees' vocalisations was associated to the relaxed open-mouth face while playing (Parr et al. 2005). Moreover, in a study conducted on cheetahs, Volodina (2000) highlighted a correlation between the use of sounds including rhythmic pulsations and positive situations (i.e. mother and cub interactions).

Furthermore, these sounds are all particularly soft. Peters (2002) suggested that the low intensity of these sounds could be an adaptation to prevent predator detection.

A very recent work conducted on young rhinos demonstrated that the snort pulsation was context-dependent and that two subtypes of snorts (pulsed and non-pulsed) should now be considered (Linn et al. 2018). Also, horses produce a variety of context-dependent non-vocal sounds. The snore (i.e. a very short raspy inhalation sound) is produced in a low alert context such as when investigating a novel object or obstacle; while the blow (i.e. a short and very intense non-pulsed exhalation through the nostrils) is generally associated with vigilance and alarm postures (Kiley 1972; Waring 2003). The snort has very recently been suggested as a potential indicator of positive emotions (Stomp et al. 2018). Moreover, as part of this recent study, we noticed that two types of snort could be differentiated by ear based on the presence of pulsations (personal observations). Thus, in light of this and considering the evident link between acoustic features and internal state, the aims of the present study were to go further into the acoustic variability of horses' snorts, first by confirming the existence of two subtypes of snort and second by testing further the link between snort subtypes and positive internal states since now we have reliable knowledge about

living conditions that may either favour (e.g. Sankey et al. 2010b; Henry et al. 2017; Rochais et al. 2018) or on the contrary inhibit (e.g. Cooper and McGreevy 2007; Benhajali et al. 2008; Hausberger et al. 2009) positive internal states in horses.

To confirm the existence of two snort subtypes easily discriminable by the ear and therefore demonstrate the acoustic variability of this understudied non-vocal sound, we first ran a playback experiment to test the ability of naïve humans to auditory discriminate snort subtypes (i.e. pulsed versus nonpulsed). Then, to examine whether these different snort subtypes are expressed in different contexts, such as the environmental context (i.e. pasture versus stall), the production of each snort subtype was observed in a group of 20 riding school horses. We thus expected to find more pulsed snorts in favourable conditions (e.g. living in a social group and out in pasture) as well as in individuals expressing no discomfort (e.g. both ears in forward position).

Materials and methods

Ethical note

The study was carried out in 2016 in accordance with the European Parliament and the European Union Council directive 2010/63/UE relative to the protection of animals used for scientific purposes and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree no. 2013-118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under no. R. 214-87 à R. 214-137). Being only observational, our study did not require any further ethical authorization. The private owner of the riding school allowed our research to be conducted on his site. Animal husbandry and care were under the management of the riding school staff.

Subjects and management conditions

Twenty horses (15 geldings and 5 mares), aged from 4 to 15 years old ($X \pm SE = 10.2 \pm 3.1$), from different breeds, including mixed-breed horses (8 breeds in

total, 25% Thoroughbreds, 15% French Saddlebreds) living in a French riding school in Brittany were studied. All the observed animals were living under the same conditions for at least 1 year. Horses were kept in a barn, in strawbedded 3.40 m × 3.30 m individual stalls, with door openings and grids in the wall allowing visual contact with conspecifics. They were fed industrial pellets twice a day (at 9:30 am and 6:00 pm) and hay (6–7 kg) once a day (at 9:00 am). All horses went out to paddocks (with grass) every day from 1 to 4 h per day, with variable social partners. They were also working in riding lessons (including being ridden by riders from beginners to experienced ones) for 4–12 h per week under the supervision of a riding teacher. They were also used for riding lessons with typical English riding style (see also Lesimple et al. 2010, 2016). Lastly, none of the subjects had known or visible respiratory problems that may impact on the frequency of snorts. Data collection

Snort recordings

Snorts were recorded with a directional microphone (Sennheiser® K6/ME66) connected to a digital stereophonic portable recorder (PMD661 Marantz®, sampling rate 44,100 Hz, resolution 16 bits) by one single experimenter (M.L.). The directional microphone was mounted in a parabolic reflector for the outside context in order to filter background noises due to wind. Additionally, a microphone (Sony® ECM-T6) was used to record the experimenter comments. Snorts of each horse were recorded when individuals were free of a working session both in stalls and in pastures using 5-min focal behavioural sampling (Altmann 1974) with in total 12 ± 3 5-min sessions per horse per location, depending on the available time of observation of the horses. A total of 174 snorts were recorded (8.5 ± 4.8 snorts per horse) between the 5th and the 15th of April 2016. During the recording days the weather was cloudy and the temperatures fluctuated between 12 and 18 °C; hence, no major presence of insects, nor dust due to dry weather was observed.

Snort classification

Acoustic measurements Snort spectrograms were extracted using ANA software (Richard 1991)

implemented on Linux (FFT size 256). An audio-visual exploration of spectrograms enabled the experimenter to classify sounds as either Bpulsed snorts[^] (PS, including a noticeable pulse sequence) or Bnonpulsed snorts[^] (NPS, showing an apparent overall similar acoustic structure but without any pulsation) (see examples in Fig. 1). Out of the 174

± 0.24 s; non-pulsed: 0.82 ± 0.13 s; Mann-Whitney test,

$N_{\text{pulsed}} = 13$, $N_{\text{non-pulsed}} = 12$, $W = 65$, $p = 0.49$). The set composed of the 25 sounds was broadcast in the same (random) order to all subjects. Before starting the test, participants were told that ‘the experiment was about the acoustic function of snorts in horses,

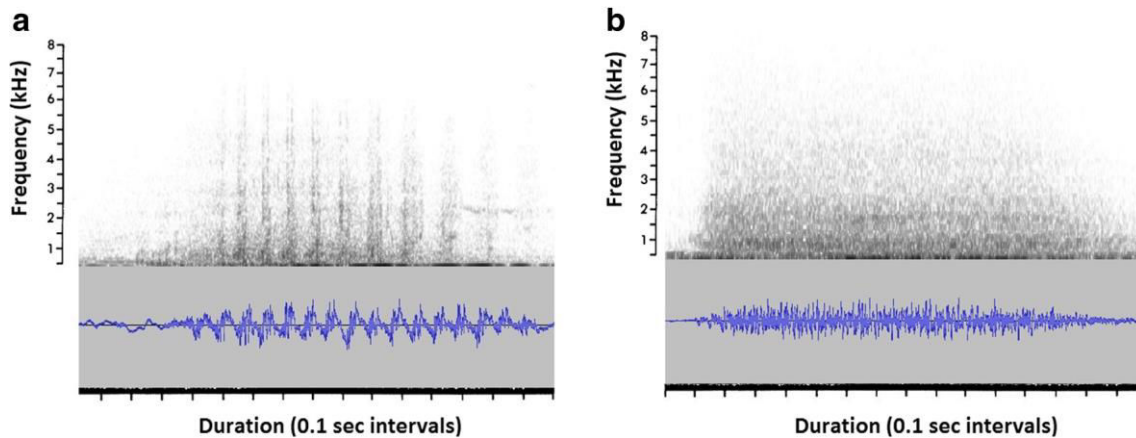


Fig. 1 Spectrograms of pulsed (a) and non-pulsed (b) snorts recorded in this study

snorts recorded in total, only 117 (67.2% of the snorts) could be properly classified into pulsed snorts (PS) or non-pulsed snorts (NPS) (failures were only due to bad recording quality, i.e. either loud background noises or too long distance between the horse and the microphone).

Auditory discrimination These soft unvoiced sounds are particularly difficult to categorise with typical acoustic measurements (see failures to acoustically sort pulsed from non-pulsed snorts in rhinos, (Linn et al. 2018)). So in order to confirm the existence of the two subtypes of snort, we choose to perform a playback experiment to test the ability of naive humans to auditory discriminate them (as in Kremers et al. 2011; Pongrácz et al. 2005). A sample of the best recording quality snorts (i.e. without background noises and recorded at a short distance) were broadcast to 20 human subjects (male and female master and Ph.D. students and scientists working in behavioural biology) that were blind to the study and unfamiliar with horses and their acoustic signals. Thirteen Bpulsed snorts[^] and twelve Bnon-pulsed snorts[^] were broadcast to each participant. Snorts were of similar durations (pulsed: $X \pm SE = 0.79$

and that snorts were coming from two different categories, one called BA[^] and another one called BB[^]. Then, the experimenter (M.S.) played one example of a Bpulsed[^] and a Bnon-pulsed[^] snort (not included in the testing set) without giving any further information about the acoustic difference between A and B sounds. Then subjects were asked to classify the sounds as BA[^] or BB[^] snort.

Snort production and immediate context

During each recording session, the experimenter (M.L.) additionally observed the location of the subject (pasture versus box), as well as the ears' and neck's positions and the behavioural activity of the subject during snort production using a microphone. Four ear positions were sampled in accordance with the definition given in previous studies (e.g. Reefmann et al. 2009; Lesimple et al. 2016): forward, backward, asymmetrical and sideward. Backward ear position is commonly associated with negative emotional states, such as discomfort or pain (e.g. Hausberger et al. 2016, Rochais et al. 2018; for a review: Glerup and Lindegaard 2016) or during agonistic interactions (e.g. Waring 2003). Forward or sideward ear positions rather are commonly observed

during feeding, calm observation, or during positive affiliative interactions with conspecifics or humans (Waring 2003; Sankey et al. 2010a; Rochais et al. 2016). Forward ears may also arise when horses are being attentive to a distant stimulation, including danger (e.g. Waring 2003; Rochais et al. 2017) but since snorts were mostly produced during feeding (and secondarily calm observation) (Stomp et al. 2018), their forward/sideward position here was considered as a reflect of a calm, potentially positive, state.

Finally, in order to test a potential effect of ground dust, we also assessed the neck height at the moment of snort production. We scored it as horizontal (0° – 45° /back line), high ($> 45^\circ$ /back line) or low ($< 0^\circ$ /back line) according to Lesimple et al. (2010).

The sampling paradigm used was the same as the one reported in Stomp et al. (2018). Install, the experimenter followed a standardised route in the barn in order to observe simultaneously two horses for each 5-min-focal period, until all the individuals have been observed. In pasture, focal samples were made according to a standardised route again, and all individuals (one to six individuals) in a given location were observed simultaneously. On average, 12 ± 3 focal samples were collected per horse per location (i.e. pasture and stall). In general, recordings took place between 10 a.m. and 6 p.m. Data and statistical analyses

As all data were not normally distributed, we used nonparametric statistical tests (Siegel and Castellan 1988).

First, in order to test the relevance of our snort classification, we calculated a percentage of success based on the number of correct classifications for each participant. Then the average success score obtained for each subtype of snort, as well as the average total success score obtained on the whole test, were compared to the chance level (i.e. 50%) thanks to binomial tests. Moreover, humans' average success scores in classifying both subtypes of snorts were compared using a Wilcoxon test. Then, a Kendall's coefficient of concordance was used in order

to estimate the degree of agreement between participants.

Then, we looked for non-random associations between snort subtypes and the different studied contexts. As some recorded snorts could not be classified because of too poor quality and had thus to be discarded for the statistical analysis, we decided to compare relative proportions (percentages) of snort subtypes per context (instead of snort subtype rate per se). Thus, we first calculated, separately for each snort subtype, the relative proportions of snort emitted in stalls vs pastures (regardless of the ears and neck positions) and with the ears and the neck in each sampled position (regardless of the location). Then, we compared, using one Wilcoxon test per contextual variable, the individual proportions of pulsed and nonpulsed snorts.

All statistical analyses were done with R® software 3.3.1 (alpha threshold set at 0.05).

Results

Out of the 117 snorts analysed, we identified a total of 51 nonpulsed (NPS, 0 to 11.9 in stall and from 0 to 1.6 in pasture per individual per hour) and 66 pulsed (PS, 0 to 6.3 in stall and from 0 to 8.47 in pasture per individual per hour) snorts. All the horses, except one, produced NPS, whereas three out of the 20 individuals never produced PS.

1) Confirming the snort classification: human auditory test

Human subjects clearly succeeded in identifying the two subtypes of snort: the participants' average total success score obtained on the whole test was significantly above chance ($\mu = 75.4 \pm 15.4\%$) ($p < 0.0001$, binomial test). Subjects made fewer mistakes when classifying PS ($\mu = 89.2 \pm 17.3\%$) than NPS ($\mu = 60.4 \pm 17.9\%$) (Wilcoxon test, $N = 20$, $Z = 3.8$, $p =$

0.001), even though they correctly performed above chance level in both cases (PS: $p < 0.0001$; NPS: $p = 0.0015$, binomial tests). There was a high agreement in the classification between the different subjects

(Kendall’s coefficient of concordance, $W = 0.259$, $p < 0.0001$).

II) Association of the context and postures of the horse and snort production

The expression of one or the other snort subtypes was clearly context-dependent. The proportions of snort subtypes differed in the two studied locations: in stalls, horses produced more NPS (Wilcoxon sign test, $N = 16$, $Z = 3.47$, $p = 0.0005$) (Fig. 2a), whereas in pastures, they produced significantly more PS than NPS ($N = 17$, $Z = 3.09$, $p = 0.002$) (Fig. 2b).

Moreover, overall, no difference was found between PS and NPS proportions according to the neck position ($N = 16$, horizontal: $Z = 1$, $p = 0.2$; high: $Z = 0.8$, $p = 0.4$; low: $Z = 0.2$, $p = 0.8$).

Snort production also depends on the current emotional state of the subject. Overall, snorts, either PS or NPS, were rarely produced with the ears backward ($\mu_{PS} = 0.81 \pm 3.53\%$, $\mu_{NPS} = 6.31 \pm 23.14\%$) or asymmetrical ($\mu_{PS} = 2.06 \pm 9.02\%$, $\mu_{NPS} = 0 \pm 0\%$), the ears’ position being mostly sideways ($\mu_{PS} = 52.68 \pm 33.54\%$, $\mu_{NPS} = 69.51 \pm 41.83\%$) and forwards ($\mu_{PS} = 26.98 \pm 32.02\%$, $\mu_{NPS} = 7.5 \pm 24.42\%$) during snort production. Besides, PS and NPS proportions did not differ when horses had their ears backwards ($N = 19$, $Z = 0.7$, $p = 0.47$) and asymmetrical ($N = 19$, $Z = 0$, $p = 1$). Also, none of the snort subtype was particularly associated with sideward position ($N = 19$, $Z = 1.1$, $p = 0.26$) (Fig. 3a). Conversely, a significant higher proportion of PS was produced with ears forward in comparison of the NPS one (Wilcoxon sign test, $N = 19$, $Z = 2.41$, $p = 0.015$) (Fig. 3b). Moreover, both in stall

Fig. 2 Mean proportions of snort subtypes sampled in stalls (a) and in pastures (b), Wilcoxon sign test: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

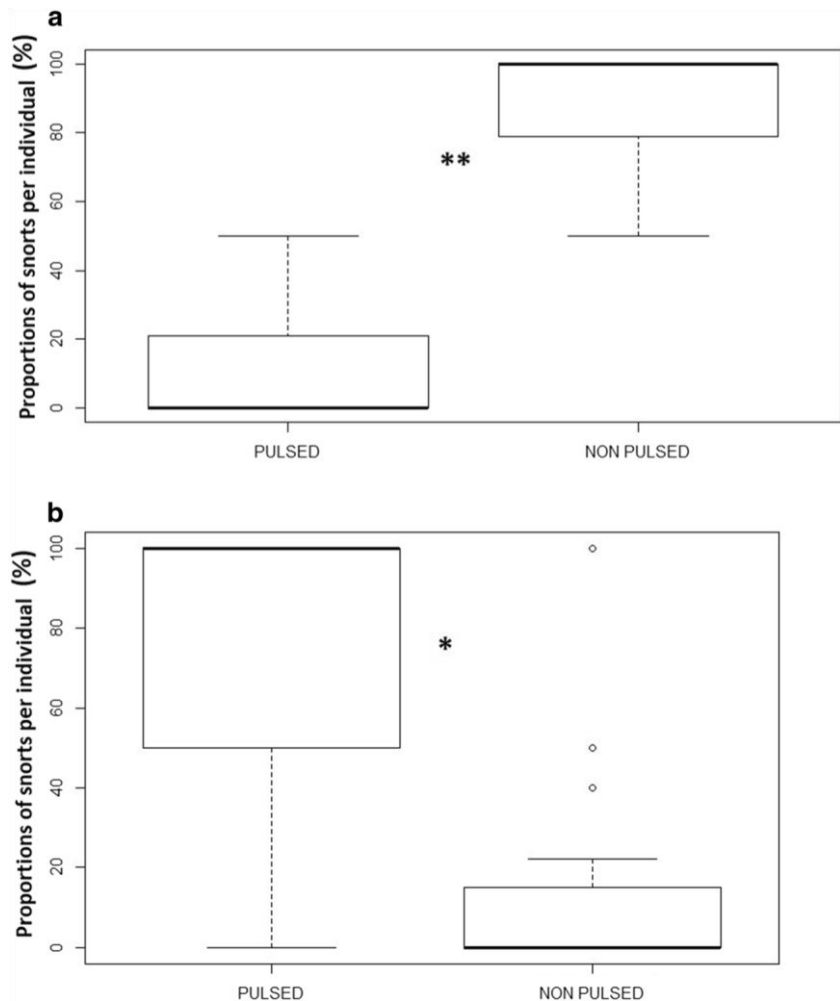
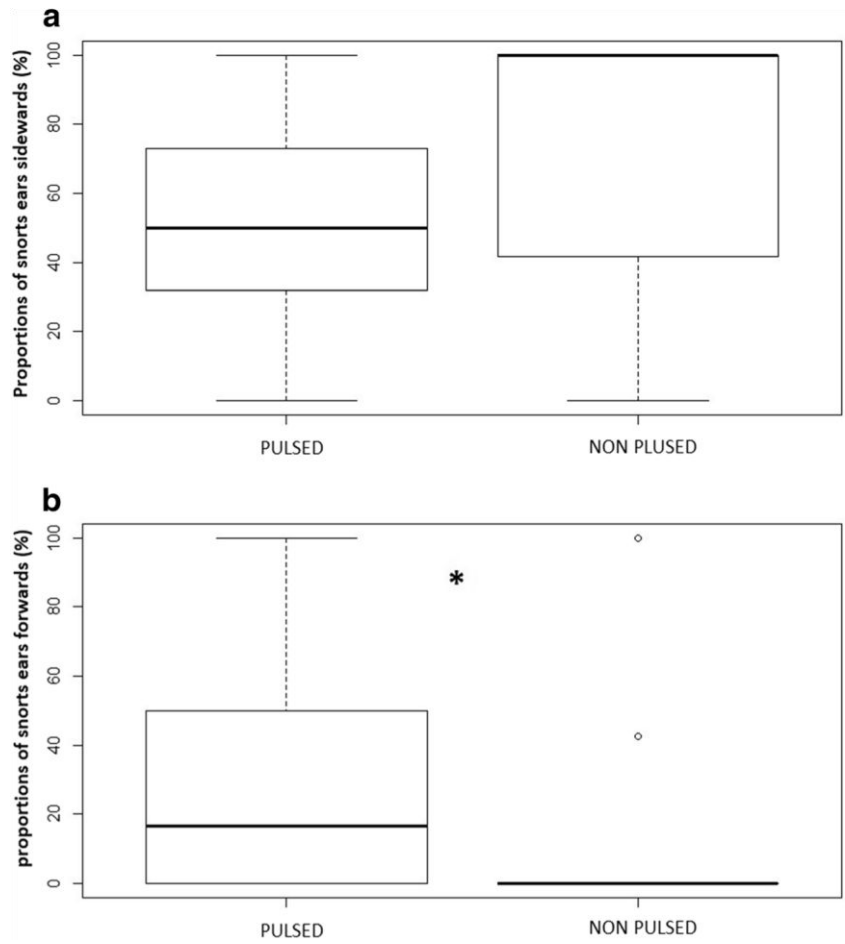


Fig. 3 Mean snort proportions produced with ears a sideward or b forward, Wilcoxon sign test, * $p < 0.05$



and in pasture, the snort production, either of PS and NPS, was mainly associated with feeding (stall: $\mu = 69.5\% \pm 35.7\%$; pasture: $\mu = 74.7\% \pm 30.5\%$) and secondarily with quiet observation in stall ($\mu = 8.9\% \pm 19.8\%$) and with slow walk in pasture ($\mu = 7.1\% \pm 16.9\%$). Since these activities are both associated with rather positive contexts and that no alert/ alarm behaviour was ever observed, ear positions seemed to confirm the more positive context of PS.

Discussion

This study, on the basis of both human auditory classification and contextual evidence, demonstrates the presence of two subtypes of snorts in horses. These two subtypes seem to reflect different intensities of positive emotional states. Thus, while both subtypes were observed in positive contexts mostly, pulsed snorts are still produced more often in the most positive contexts (pasture) and postures (ears forward).

These results support a recent description of the acoustic repertoire of infant and juvenile Southern white rhinoceros, a related species, that highlighted the importance of distinguishing snorts characterised by a constant air blow from pulsed ones (Linn et al. 2018).

If snorts are unvoiced signals, they constitute a respiratory pattern nonetheless. We know that emotions and respiration are unquestionably linked (Boiten et al. 1994) but few studies have explored the breathing pattern of positive emotions (e.g. sigh while relaxing in humans (McClernon et al. 2004); sigh in a situation of relief in rats (Soltysik and Jelen 2005), in humans (Vlemincx et al. 2009)). Sigh is a single breath, characterised by a deep in- and expiration of long duration, and is physiologically relevant to restore the homeostasis by expanding the lungs and favour gas exchanges (Wilhelm et al. 2001). Similarly, we could imagine that the snort is the result of a sudden respiratory change due to a positive emotional arousal. This is reminiscent of previous findings in squirrel monkeys by Jürgens (1979) who classified squirrel monkeys' vocalisations according to their acoustic structure. He suggested that the sound variety belonging to the same category of non-harmonic calls was the result of the evolution of a self-assertiveness state of the caller. Thus, the purr was the lowest excitement call of this category that expresses a state of contentment. Similarly, Volodina (2000) observed a modulation of the cheetahs' vocalisations according to the animals' confidence state: in an asymmetrical social encounter, the confident individual, for whom the following event is more predictable, will use a sound including rhythmic pulsations (e.g. purring, chortling, growling), while the weakest individual, in a diffident state and uncertain of its rival actions, would tend to produce more tonal sounds (e.g. miaowing, howl). Interestingly, Volodina (1997) even found that during a given vocal sequence, rhythmic sounds can change progressively towards more tonal structures when the emitter is being disturbed. Therefore, the authors concluded that there was a modulation of the call structure according to the emotional state of the caller. In the case of horse snorts, earlier observations had shown that snorts are produced overall in positive contexts (Stomp et al. 2018). Here, we confirm that both pulsed and non-pulsed snorts are produced in more positive and calm contexts but that pulsed snorts are still more representative of positive contexts (almost only in pasture) and potentially states (mostly ears forwards). Both subtypes may thus reflect two levels of positive emotions, expressed, as in cheetahs, by differences in vibration. Horses' snorts cannot be compared to felid or primate sounds in terms of mechanisms, as snorting is associated with a single respiratory phase (exhalation) while purring relates to an inhalation and exhalation phase, but the structure-function parallel is interesting. Indeed, we especially know that homologous sounds associated with comfort and contentment are present in other mammal species (e.g. purring in lemurs and carnivores (Kiley Worthington 1984; Peters 2002)).

Future researches are of course needed to understand more fully the biological function of the rhythmic pulsation in acoustic signals and particularly unvoiced ones by expanding to larger samples. Also, it might be interesting to develop an automated recording device that could record non-vocal sounds consistently over longer periods of time. However, this study is a step further in the understanding of the acoustic coding of emotions, as well as in the identification of indicators of positive emotions in horses.

Acknowledgements Authors are grateful to the riding school of La Touche in Ploërmel (France) and particularly to S. Gicqueau and all the staff for letting them observe the horses and for their help on site.

Funding This study was funded by IFCE (Institut français du cheval et de l'équitation) (<http://www.ifce.fr/>), the Fonds Eperons (<https://www.fondseperon.com/>), the University of Rennes (<https://www.univrennes1.fr/>), and the CNRS (<http://www.cnrs.fr/>).

Compliance with ethical standards

The study was carried out in 2016 in accordance with the European Parliament and the European Union Council directive 2010/63/UE relative to the protection of animals used for scientific purposes and complied with the current French laws related to animal experimentation (decree no. 2013-118 of 1 February 2013 and its five implementation orders (JO of 7 February 2013), integrated in the Code rural and the Code of the maritime fishing under no. R. 214-87 à R. 214-137). Being only observational, our study did not require any further ethical authorization. The private owner of the riding school allowed our research to be conducted on his site. Animal husbandry and care were under the management of the riding school staff.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Altmann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 49:227–267
- Benhajali H, Richard-Yris M-A, Leroux M, Ezzaouia M, Charfi F, Hausberger M (2008) A note on the time budget and social behaviour of densely housed horses: a case study in Arab breeding mares. *Appl Anim Behav Sci* 112:196–200. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2007.08.007>
- Blois-Heulin C, Rochais C, Camus S, Fureix C, Lemasson A, Lunel C, Bezard E, Hausberger M (2015) Animal welfare: could adult play be a false friend? *Anim Behav Cogn* 2:156–185. <https://doi.org/10.12966/abc.05.04.2015>
- Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, Moe RO, Spruijt B, Keeling LJ, Winckler C, Forkman B, Dimitrov I, Langbein J, Bakken M, Veissier I, Aubert A (2007) Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol Behav* 92:375–397. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2007.02.003>
- Boiten FA, Frijda NH, Wientjes CJE (1994) Emotions and respiratory patterns: review and critical analysis. *Int J Psychophysiol* 17:103–128
- Bradshaw JWS, Casey R, Brown S (2012) *The behaviour of the domestic cat*, 2nd edn. Cabi, Wallingford
- Briefer EF (2012) Vocal expression of emotions in mammals: mechanisms of production and evidence. *J Zool* 288:1–20. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2012.00920.x>
- Briefer EF, Maigrot A-L, Mandel R, Freymond SB, Bachmann I, Hillmann E (2015) Segregation of information about emotional arousal and valence in horse whinnies. *Sci Rep* 4:9989. <https://doi.org/10.1038/srep09989>
- Brudzynski SM (2007) Ultrasonic calls of rats as indicator variables of negative or positive states: acetylcholine–dopamine interaction and acoustic coding. *Behav Brain Res* 182:261–273. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2007.03.004>
- Cooper J, McGreevy P (2007) Stereotypic behaviour in the stabled horse: causes, effects and prevention without compromising horse welfare. In: *The welfare of horses*. Springer, Dordrecht, pp 99–124
- Désiré L, Boissy A, Veissier I (2002) Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behav Processes* 60: 165–180. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(02\)00081-5](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(02)00081-5)
- Fichtel C, Hammerschmidt K, Jürgens U (2001) On the vocal expression of emotion. A multi-parametric analysis of different states of aversion in the squirrel monkey. *Behaviour* 138:97–116. <https://doi.org/10.1163/15685390151067094>
- Gleerup KB, Lindegaard C (2016) Recognition and quantification of pain in horses: a tutorial review. *Equine Vet Educ* 28:47–57. <https://doi.org/10.1111/eve.12383>
- Gogoleva SS, Volodina EV, Volodin IA, Kharlamova AV, Trut LN (2010) The gradual vocal responses to human-provoked discomfort in farmed silver foxes. *Acta Ethol* 13:75–85. <https://doi.org/10.1007/s10211-010-0076-3>
- Hausberger M, Gautier E, Biquand V, Lunel C, Jégo P (2009) Could work be a source of behavioural disorders? A study in horses. *PLoS One* 4:e7625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007625>
- Hausberger M, Fureix C, Lesimple C (2016) Detecting horses' sickness: in search of visible signs. *Appl Anim Behav Sci* 175:41–49. <https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2015.09.005>

- Henry S, Fureix C, Rowberry R, Bateson M, Hausberger M (2017) Do horses with poor welfare show pessimistic cognitive biases? *Sci Nat* 104:8. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1429-1>
- Jürgens U (1979) Vocalization as an emotional indicator. A neuroethological study in the squirrel monkey. *Behaviour* 69:88–117
- Kiley M (1972) The vocalizations of ungulates, their causation and function. *Z Tierpsychol* 31:171–222. <https://doi.org/10.1111/j.14390310.1972.tb01764.x>
- Kiley-Worthington M (1984) Animal language? Vocal communication of some ungulates, canids and felids. *Acta Zool Fenn* 171:8
- Knutson B, Burgdorf J, Panksepp J (1998) Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *J Comp Psychol* 112:65–73
- Kremers D, Jaramillo MB, Böye M, Lemasson A, Hausberger M (2011) Do dolphins rehearse show-stimuli when at rest? Delayed matching of auditory memory. *Front Psychol* 2:386. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00386>
- Lemasson A, Remeuf K, Rossard A, Zimmermann E (2012) Cross-taxa similarities in affect-induced changes of vocal behavior and voice in arboreal monkeys. *PLoS One* 7:e45106. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045106>
- Lesimple C, Fureix C, Menguy H, Hausberger M (2010) Human direct actions may alter animal welfare, a study on horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 5:e10257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010257>
- Lesimple C, Poissonnet A, Hausberger M (2016) How to keep your horse safe? An epidemiological study about management practices. *Appl Anim Behav Sci* 181:105–114. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.04.015>
- Linn SN, Boer M, Scheumann M (2018) First insights into the vocal repertoire of infant and juvenile southern white rhinoceros. *PLoS One* 13:e0192166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192166>
- Macedonia JM (1993) The vocal repertoire of theringtailed lemur (*Lemur catta*). *Folia Primatol* 61:186–217. <https://doi.org/10.1159/000156749>
- Manteuffel G, Schön PC (2002) Measuring pig welfare by automatic monitoring of stress calls. *Agrar Berichte* 29:110–118
- McClernon FJ, Westman EC, Rose JE (2004) The effects of controlled deep breathing on smoking withdrawal symptoms in dependent smokers. *Addict Behav* 29:765–772. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2004.02.005>
- Montenegro OL (1998) The behavior of lowland tapir (*Tapirus terrestris*) at a natural mineral lick in the peruvian amazon. Master Thesis, University of Florida, Gainesville
- Morton ES (1977) On the occurrence and significance of motivationstructural rules in some bird and mammal sounds. *Am Nat* 111: 855–869. <https://doi.org/10.1086/283219>
- Newberry RC, Wood-Gush DGM, Hall JW (1988) Playful behaviour of piglets. *Behav Process* 17:205–216. [https://doi.org/10.1016/03766357\(88\)90004-6](https://doi.org/10.1016/03766357(88)90004-6)
- Panksepp J, Burgdorf J (2003) Laughing rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiol Behav* 79:533–547. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00159-8)
- Papoušek H, Jürgens U, Papoušek M (eds) (1992) Nonverbal vocal communication: comparative and developmental approaches. Cambridge University Press, New York
- Parr LA, Cohen M, de Waal F (2005) Influence of social context on the use of blended and graded facial displays in chimpanzees. *Int J Primatol* 26:73–103. <https://doi.org/10.1007/s10764-005-0724-z>
- Peters G (2002) Purring and similar vocalizations in mammals. *Mamm Rev* 32:245–271. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2002.00113.x>
- Policht R, Tomasova K, Holeckova D, Frynta D (2008) The vocal repertoire in northern white rhinoceros *ceratotherium simum cottoni* as recorded in the last surviving herd. *Bioacoustics* 18:69–96. <https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753591>
- Pongrácz P, Molnár C, Miklósi Á, Csányi V (2005) Human listeners are able to classify dog (*Canis familiaris*) barks recorded in different situations. *J Comp Psychol* 119:136–144. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.119.2.136>
- Puppe B, Schön PC, Tuchscherer A, Manteuffel G (2005) Castrationinduced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: complex and specific alterations of the vocal quality. *Appl Anim Behav Sci* 95: 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.05.001>
- Reefmann N, Bütikofer Kaszàs F, Wechsler B, Gyax L (2009) Ear and tail postures as indicators of emotional valence in sheep. *Appl Anim Behav Sci* 118:199–207. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.013>
- Reimert I, Bolhuis JE, Kemp B, Rodenburg TB (2013) Indicators of positive and negative emotions and emotional contagion in pigs. *Physiol Behav* 109:42–50. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.11.002>
- Richard J-P (1991) Sound analysis and synthesis using an amiga microcomputer. *Bioacoustics* 3:45–60. <https://doi.org/10.1080/09524622.1991.9753156>
- Rochais C, Fureix C, Lesimple C, Hausberger M (2016) Lower attention to daily environment: a novel cue for detecting chronic horses' back pain? *Sci Rep* 6:20117. <https://doi.org/10.1038/srep20117>
- Rochais C, Henry S, Hausberger M (2017) Spontaneous attention-capture by auditory distractors as predictor of distractibility: a study of domestic horses (*Equus caballus*). *Sci Rep* 7:15283. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15654-5>
- Rochais C, Henry S, Hausberger M (2018) BHay-bags and Bslow feeders: testing their impact on horse behaviour and welfare. *Appl Anim Behav Sci* 198:52–59. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.09.019>
- Sankey C, Richard-Yris M-A, Henry S, Fureix C, Nassur F, Hausberger M (2010a) Reinforcement as a mediator of the perception of humans by horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 13:753–765. <https://doi.org/10.1007/s10071-010-0326-9>
- Sankey C, Richard-Yris M-A, Leroy H, Henry S, Hausberger M (2010b) Positive interactions lead to lasting positive memories in horses, *Equus caballus*. *Anim Behav* 79:869–875. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.12.037>
- Scheumann M, Zimmermann E, Deichsel G (2007) Context-specific calls signal infants' needs in a strepsirrhine primate, the gray mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Dev Psychobiol* 49:708–718. <https://doi.org/>

[10.1002/dev.20234](https://doi.org/10.1002/dev.20234)

- Sèbe F, Poindron P, Andanson S et al (2012) Bio-acoustic analyses to assess emotion in animals: acoustic patterns are linked to behavioural, cardiac and hormonal responses of ewes to the separation from their lambs. *Bioacoustics* 21:54
- Seyfarth R, Cheney D (2003) Meaning and emotion in animal vocalizations. *Ann N Y Acad Sci* 1000:32–55
- Sieber OJ (1984) Vocal communication in raccoons (*Procyon Lotor*). *Behaviour* 90:80–113. <https://doi.org/10.1163/156853984X00560>
- Siebert K, Langbein J, Schön P-C, Tuchscherer A, Puppe B (2011) Degree of social isolation affects behavioural and vocal response patterns in dwarf goats (*Capra hircus*). *Appl Anim Behav Sci* 131: 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.01.003>
- Siegel S, Castellan J (1988) Nonparametric statistics for the behavioral sciences, 2nd edn. McGraw-Hill, New York
- Soltysik S, Jelen P (2005) In rats, sighs correlate with relief. *Physiol Behav* 85:598–602. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2005.06.008>
- Stomp M, Leroux M, Cellier M, Henry S, Lemasson A, Hausberger M (2018) An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses. *PLoS One* 13:e0197898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197898>
- Sugiura H (2007) Effects of proximity and behavioral context on acoustic variation in the coo calls of Japanese macaques. *Am J Primatol* 69: 1412–1424. <https://doi.org/10.1002/ajp.20447>
- Taylor AM, Reby D, McComb K (2009) Context-related variation in the vocal growling behaviour of the domestic dog (*Canis familiaris*). *Ethology* 115:905–915. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2009.01681.x>
- Thomas TJ, Weary DM, Appleby MC (2001) Newborn and 5-week-old calves vocalize in response to milk deprivation. *Appl Anim Behav Sci* 74:165–173. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00164-2)
- Vlemincx E, van Diest I, de Peuter S, Bresseleers J, Bogaerts K, Fannes S, Li W, van den Bergh O (2009) Why do you sigh? Sigh rate during induced stress and relief. *Psychophysiology* 46:1005–1013. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2009.00842.x>
- Volodina EV (1997) Vocalization as emotional indicator in cheetah *Acinonyx jubatus* in captivity. *Nauchn* 9:149–162
- Volodina EV (2000) Vocal repertoire of cheetah *Acinonyx jubatus* (Carnivora, Felidae) in captivity: sound structure and search for means of assessing the state of adult animals. *Entomol Rev* 80: 368–378
- von Borell E, Bünger B, Schmidt T, Horn T (2009) Vocal-type classification as a tool to identify stress in piglets under on-farm conditions. *Anim Welf* 18:407–416
- Waring GH (2003) Horse behavior. The behavioral traits and adaptations of domestic and wild horses, including ponies. Noyes Publication/ William Andrew Pub, Park Ridge
- Wilhelm FH, Gevirtz R, Roth WT (2001) Respiratory dysregulation in anxiety, functional cardiac, and pain disorders assessment, phenomenology, and treatment. *Behav Modif* 25:513–545
- Yin S, McCowan B (2004) Barking in domestic dogs: context specificity and individual identification. *Anim Behav* 68:343–355. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2003.07.016>
- Zimmermann E (1995) Acoustic communication in nocturnal prosimians. In: *Creatures of the dark*. Springer US, Boston, MA, pp 311–330

Synthèse de l'article 7

Question

Si de nombreuses évidences montrent que le travail peut être source de stress chez le cheval, il semblerait que la position adoptée par le cavalier ait un impact majeur à la fois sur l'émergence de comportements reflétant un état émotionnel négatif immédiat (*e.g.* « conflict behaviour ») mais aussi sur l'état chronique des chevaux (*e.g.* problèmes de dos). Par ailleurs, plusieurs études ont pu démontrer un biais positif de perception de l'environnement chez des chevaux montés en loisir (*i.e.* technique favorisant le confort) alors qu'une augmentation des comportements de stress a pu être observée lors de l'anticipation de sessions d'apprentissage utilisant le renforcement négatif. Nous avons montré que l'ébrouement pouvait être un indicateur fiable d'émotions positives (article 5). Nous avons ainsi émis l'hypothèse ici que ce signal acoustique pourrait être indicateur de la façon dont les chevaux perçoivent le travail.

Méthodes

Au total 127 chevaux, répartis dans 16 établissements, ont été observés lors de reprises d'équitation pour débutants. Après avoir relevé le nombre total d'ébrouements produits au cours d'une session d'une heure, nous avons particulièrement analysé les positions des cavaliers (*i.e.* hauteur des mains, longueur et tension des rênes) ainsi que les postures des chevaux (*i.e.* hauteur d'encolure, position des oreilles) associées à la production des ébrouements, lors des phases de pas et de trot/galop indépendamment. De plus, la fréquence d'ébrouements a été associée au discours prononcé par les moniteurs d'équitation.

Résultats

Des différences sont apparues dans le nombre d'ébrouements produits par heure par individu selon les centres équestre. De plus nous avons montré que plus les moniteurs demandaient aux cavaliers d'avancer leurs mains, moins les chevaux ont émis d'ébrouements. Nous n'avons pas établi de différence significative entre le nombre d'ébrouements produit par minute selon l'allure du cheval (pas *vs.* trot/galop). En revanche, nous avons pu observer un certain contraste entre les positions et posture relevées globalement lors de la reprise et celles mesurées au moment même de la production des ébrouements. Au cours des phases de pas, si les cavaliers adoptaient majoritairement une position plus contraignante pour le cheval (*i.e.* rênes courtes et tendues), associée à une position d'encolure principalement haute, à l'inverse au moment de la production des ébrouements, les cavaliers avaient plus souvent les rênes longues et détendues, et les chevaux l'encolure basse. Au trot/galop, les cavaliers étaient globalement plus souvent rênes longues et détendues alors que ces positions n'ont plus été observées au moment de l'émission des ébrouements. En revanche que ce soit globalement au long de la séance ou au lors de la production d'ébrouements, les chevaux avaient significativement plus souvent l'encolure haute.

Conclusion

Ces résultats montrent que la production d'ébrouements semble être modulée par les techniques d'équitation. Dans un contexte de travail, les ébrouements apparaissent associés à un état de relaxation au pas alors qu'ils seraient, au trot/galop, plus indicatifs de gênes physiques pouvant être liées aux équipements et/ou aux positions adoptées par le cavalier. La production d'ébrouements dans ce contexte n'apparaît pas être un indicateur complètement valide d'un état interne positif chez le cheval et nécessite d'être interprétée avec précaution.

Manuscrit en préparation

Manuscript in preparation

Could snorts inform us on how horses perceive riding?

INTRODUCTION

How animals perceive work remains under debate. In pigs, performing tasks enhances well-being (Ernst et al., 2006), but in dogs, work-related stress may emerge, either because of the type of activity (*e.g.* animal-assisted activities, Haubenhofer and Kirchengast, 2006), the type of reinforcement used (*e.g.* Haverbeke et al., 2008; Hiby et al., 2004) or the associated physical constraints (Rooney et al., 2016). In horses, the impact of work, and especially riding, has long been underestimated (Ödberg and Bouissou, 1999), but it is well established now that riding can be a source of acute stress for horses (McGreevy and McLean 2005), so that the simple view of working related objects may lead to negative reactions (Fureix et al., 2009). Several studies using preference tests demonstrated that horses did not show strong motivation for exercise performed under constraining conditions (Górecka-Bruzda et al., 2013; Lee et al., 2011), and could even perceive riding as uncomfortable (König von Borstel and Keil, 2012). In a study on jumping horses, Górecka-Bruzda et al. (2011) found that the motivation to jump, even small fences, decreased rapidly with higher effort, concluding that this exercise was emotionally costly for the horse. Accordingly Ille et al. (2013) recorded peak cortisol levels after jumping, as a probable result of the exercise. Moreover, riders' techniques, positions and skills do impact the mental and physical well-being of horses (Lesimple et al., 2010; Lovett et al., 2005; McGreevy and McLean, 2010; Murphy, 2008; Ödberg and Bouissou, 1999) and lead when inappropriate to the display of stress (“conflict”) behaviours by the horses (Górecka-Bruzda et al., 2015; Hall and Heleski, 2017; von Borstel et al., 2009; Williams and Warren-Smith, 2010), as well as postural (*e.g.* ears backwards [von Borstel and König 2008; von Borstel et al. 2009; Ludewig et al. 2013]) and physiological changes (for a review: König Borstel et al. 2017). Excessive reins tension appears to have a particular impact on horses' emotional and physical state since a too harsh and unnecessary use of bits by novice riders may lead to serious sanitary problems in the mouth, a particularly sensitive part of the horse's

anatomy (Cook, 2003; Mata et al., 2015). Indeed, several authors underlined the aversive aspect of rein tension (Christensen et al., 2011), and more generally different kind of tension-eliciting equipment (Clayton et al., 2011; McGreevy, 2007; McLean and McGreevy, 2010; Murphy, 2009) leading to conflict behaviours as head tossing or reefing the reins (*e.g.* von Borstel et al. 2009; König von Borstel and Glißman 2014). Moreover, shortening of the reins has been associated with vigorous tail switching and flattened ears backwards in the horse (Ludewig et al., 2013). Thus, the hands actions are considered as one of the most prone to induce potential stress (König von Borstel and Glißman, 2014; McGreevy and McLean, 2005). Horses also try to avoid pain in the mouth by raising the head and neck, which leads to a characteristic posture where the neck becomes flat or hollow (Cook, 2003). The repetition of these avoidance behaviours, (*i.e.* head raising, head tossing) may lead to back problems and chronic and behavioural or postural modifications (*e.g.* Hausberger et al., 2009; Lesimple et al., 2010). In a study on leisure and riding school horses, Fureix et al. (2011b) showed that the two categories of horses differed greatly in terms of back shape, with more roundness in the leisure horses, that, beyond living in a more appropriate environment, were also ridden with loose reins and low hands. Interestingly, when confronted to cognitive bias tasks, the leisure horses appeared more optimistic than the instruction horses (Henry et al., 2017). In the same line as the observation that horses trained with positive reinforcement are then more positive towards the task and the trainer than those trained using negative reinforcement (Sankey et al., 2010b, 2010c), one can wonder whether horses may learn to appreciate work, and in this case, whether there are particular moments that they would appreciate more. Lesimple et al. (2016a, 2010) showed that the time spent by beginners with high hands was correlated with that spent by the horse with a high neck and consequently led more vertebral disorders. This means that such times are probably negative experiences for the horse.

The teacher's strategy played a major role in determining the attention young riders pay on their position and actions (Lesimple et al., 2016a, 2010) and explained the important differences observed between riding schools. This also means that some strategies for teaching and riding may be better perceived by the horse. However, indicators of positive emotions in a riding context are still scarce to date. Yet, promoting positive emotions during learning has been shown to reduce problematic defence behaviours during training (*e.g.* biting or kicking) and consequently the risks of accidents, in comparison to some training methods that may induce discomfort or stress (*e.g.* von Borstel et al. 2009). Thus, it becomes really necessary to identify these positive situations in order to be able to assess how the horses perceive the situation and consequently promote favourable practices.

We recently found that, outside the working context, snorts (more or less pulsed sounds resulting from the expulsion of the air through the nostrils), could, outside any respiratory issue, reflect mild positive emotions in horses since they were clearly more produced in a context that favour the expression of a positive internal state (*e.g.* pasturing in groups) and were more present in horses in a good welfare state (Stomp et al., 2018b). Interestingly, one study found that snort production was negatively correlated to rein tensions in dressage horses (König von Borstel and Glißman, 2014) and Dyson et al. (2018) reported that it was frequent to hear snorts after improvement in lameness as a potential sign of relaxation. We hypothesized therefore that snorts, as observed in other contexts, could help identifying the phases and actions that horses could appreciate most. In order to test this hypothesis, we recorded snorts during beginners riders' lessons in different riding schools and investigated their context of production both in terms of the phase of work (halt, walk, other) but also of riders' position and horse's posture at the precise time of the production. In the light of the abovementioned studies, a special emphasis was given to the reins' length and tension as well as hands' height for the rider, neck's height and shape and ears' positions for the horse. We expected that more snorts would be

produced during relaxing walk, associated with a low neck position for the horse as well as low hands and long and loose reins for the riders. On the contrary, given the improper riding postures often adopted by beginners, we supposed that less snorts would be recorded while trotting/cantering.

MATERIAL AND METHODS

Subjects and management conditions

Riding lessons involving 127 horses (65 geldings and 62 mares) aged from 3 to 30 years ($X \pm SE = 13.8 \pm 5.1$) of diverse breeds (including 61.2% unregistered horses), were video recorded. The horses were living in 16 different riding schools with usual management and environmental conditions (individual stall, restricted social contacts, fed with industrial pellets 2 to 3 times a day, water *ad libitum*). Riding lessons lasted between 39 and 70 min ($X \pm SE = 56.5 \pm 7.7$). Horses were ridden by beginners with typical English riding style in average 10.2 ± 2.4 hours per week. Horses were equipped of snaffle bits.

Data collection and analysis

The video recordings were analysed by a unique experimenter (A.M.) using Behavioral Observation Research Interactive Software (BORIS v6.3.6, a free and open source software [DOI: 10.1111/2041-210X.12584](https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584))

Snort sampling

Three different non-vocal sounds have been described in horses (Kiley, 1972; Waring, 2003). All of them are produced via the passage of the air through the nostrils. The **snore** is a very short raspy inhalation sound produced in a low alert context, such as investigating a novel object or obstacle. It could also be produced prior to emitting a blow; the **blow** corresponds to a short very intense non-pulsed exhalation through the nostrils and is generally associated with

vigilance/alarm postures (*e.g.* presence of a fear-inducing object in the surroundings); the **snort** corresponds to a more or less pulsed sound produced by nostril vibrations while expulsing the air, with a slightly longer duration in comparison to the blow.

Snort structure could not be analysed here as background noises during the lessons prevented to have good enough structural analyses. They were clear enough however to be recognized both by ears and examination of sonograms. In total 15.50 hours recordings were used.

Part 1: overview of snort production, comparison between schools

In order to have an overview of their production in the different schools, snorts were recorded every time they occurred, whether the emitter was visible or not on the video using “all occurrence” methodology (Altmann, 1974).

Additionally, data were available on the teacher’s discourse for a subset of five riding schools allowing more detailed analyses, with the aim to understand whether the teacher’s discourse could explain the differences. Thus, we assessed the number of snorts produced according to the lesson phase (*i.e.* stop, relaxed walk, working walk, trot, canter) while determining the percentage of time spent in each phase during the lesson. The teacher’s speech had been recorded continuously using a digital voice recorder (Thomson DK 300) and was analysed by noting the occurrence of all recommendations, related to different parameters: management of horses (increase, decrease distance / other horse), hands’ position (raise, drop, move forward), reins’ characteristics (shorten, extend, pull, do not pull), rider’s back position (stand up straight), heel punches (give heel punches), strokes, approval and congratulations to the rider (Lesimple et al., 2016a, 2010).

Part 2: riding context of snort production

In this section, only the snorts produced while the emitter was visible were examined. At each occurrence, both the horse's postures and the riders' positions were registered (see also [Lesimple et al. 2010, 2016a]).

Rider's characteristics:

-hands' height: based on the fictional number of fists between the horse's wither and the real hands' position: very high ($H > 1$, higher than one fist), high (H1, one fist), middle (H0.5, half a fist) and low (H0, hands positioned at the wither height).

-reins' length: short (less than half the horse's neck length), medium (from half to the horse's neck length), long (more than the horse's neck length).

-reins' tension: tight (straight line between the rider's hands and the horse's mouth), loose (curve line between the rider's hands and the horse's mouth).

Horse's postures:

-the neck's height: high ($>45^\circ$ /back line), horizontal (0° – 45° /back line), low ($<0^\circ$ /back line).

-the ears' position: forward (tip of the ear towards the front at an angle of more than 30° from the perpendicular), backward (tip of the ear towards the back at more than 30° from the perpendicular), and sideward (auricles turning at 90° from the axial position - perpendicular to the head).

It is known that the ears' position is an indicator of current internal state of the horse. Backward ears position is commonly associated with negative emotional states, such as discomfort or pain (*e.g.* Ashley et al. 2005; Hausberger et al. 2016) and have been shown to be related to negative contexts (*e.g.* shorten the reins) while being ridden (Hall et al., 2014; Ludewig et al., 2013; von Borstel et al., 2009).

In order to identify the differences between the time of snort production and the rest of the lesson, observations of the riders' positions and horses' postures as mentioned above were conducted outside the context of snort production as well, in order to assess the global situation displayed during riding lessons. Both the riders (*i.e.* hands' position, reins' length and reins' tension) and horses' (neck and ears position) postures were measured on a sampling of 15 pairs (3 pairs from 5 different riding schools) using a scan sampling method (Altmann, 1974). Ten scans were performed per pair per gait (walk, trot/canter).

Data and statistical analysis

Since all recordings were not of the same duration depending on the riding schools, the number of snorts was analysed in number of snort per individual per hour in order to compare snort production between all sites.

Also, based on the number of snorts recorded as well as the total duration spent in each lesson phase (*i.e.* stop, relaxing walk, working walk, trot, canter), we calculated the number of snorts produced per minute for each lesson phase.

According to Lesimple et al (2010), the riding teacher's speech was processed as number of speech bouts per hour (*i.e.* number of times where a specific word/sentence has been pronounced during one hour of lesson).

Also, we calculated the average number of visible snorts produced for each postures' modality. Visible snorts as well as the scans performed outside the snort production context were analysed per gait: walk and trot/canter measures were thus processed independently. Data from scans were analysed in percentage of scans spent in each position per gait. Finally, in order to facilitate the reading of graphs, the average number of visible snorts recorded for each modality were converted in average percentage of snort produced. However, statistics were performed on the real data.

As data were not normally distributed, we used non-parametric tests (Siegel and Castellan, 1988). A Chi squared test was used to compare snort production per individual per hour between the different sites and Spearman correlation tests were used to assess potential correlations between snort production and teacher's bouts of each recommendation. The time spent by the riders in the different positions out of the snorting context, as well as the average snorts number recorded per horses' postures and riders' positions were analysed using Friedman and *post hoc* tests when useful. Finally, Wilcoxon tests were used to 1) compare the number of snorts produced per minute according to the lesson phase; 2) compare both the time spent outside the snorting context, as well as the snorts frequency observed according to the reins' tension.

RESULTS

1. Overall context of snort production

In total 717 snorts were recorded over the 15.5 hours of riding lessons analysed and clear differences appeared between the 16 sites studied (Chi squared test, $N=16$, $X^2=34.2$, $p=0.002$), with more snorts heard in some riding schools than in others (*i.e.* from 2.6 to 14.8 snorts per hour per horse, $X=6.3\pm 3.8$).

In average, $61.6\pm 36.5\%$ of snorts were produced during relaxing bouts (stop, relaxing walk, *i.e.* $74.1\pm 12.4\%$ of the lesson time) while $38.3\pm 36.5\%$ of the snorts were recorded during working bouts (working walk, trot/canter, *i.e.* $25.9\pm 12.4\%$ of the lesson time). However, no difference was found considering the number of snorts produced per minute according to the lesson phase (Wilcoxon test, $V=6$, $p=0.8$) for the subset of five sites analysed.

On the other hand, we found a negative correlation between the riding teacher's speech and the snorts frequency produced during the lesson: the more the teacher asked to move the hands

forward, the less snorts were produced per individual per hour (Spearman correlation, $N=5$, $r=-0.89$, $p=0.04$).

2. Riding context of snort production

In total, 71 snorts, for which the emitter and its rider were visible, could be analysed. They were produced by 38 different horses (*i.e.* from 1 to 11 snort per horse, $X=1.8\pm 1.8$).

a) Walk

Overall (outside snorting context), riders spent significantly less time with short reins than with medium or long reins ($X^2=33.4$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons $p<0.0001$ in both cases) (Fig.1A), more time with tight compared to loose reins (Wilcoxon test, $V=95.5$, $p=0.0005$) (Fig.2A) and with low hands compared to the other positions (Friedman test, $X^2=67.2$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons $p<0.0001$ in all cases). Horses were observed significantly more with a high neck (Friedman test, $X^2=61.9$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons: horizontal: $p<0.0001$; low: $p<0.0001$) (Fig.3A) and sideways ears ($X^2=45.2$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons: forwards: $p<0.0001$; backwards: $p<0.0001$).

At the time of snorting, clear differences appeared in both riders' and horses' characteristics: horses snorted more when the riders had long reins ($X^2=12.6$, $p=0.001$, post-hoc comparisons: medium: $p=0.02$; short: $p=0.008$) (Fig.1A), and low hands ($X^2=7.6$, $p=0.05$, post-hoc comparisons: H1: $p=0.02$, as outside snorting context) with no particular predominance of any rein tension ($V=31.5$, $p=0.2$) (Fig.2A). They produced less than 10% of snorts when they had a high neck but no difference was found between the number of snorts recorded according to neck's (Friedman test, $X^2=3.2$, $p=0.2$) or ears' ($X^2=2.2$, $p=0.03$) position (Fig.3A).

Thus, when both contexts were compared, it appears that horses produced more snorts when the reins were long, less tight, with low hands and their neck was in a lower position, even if these positions were not predominant during the lesson.

b) Trot/canter

Globally during these phases, outside the snort production context, riders had overall significantly more often low hands (Friedman test, $X^2=10.5$, $p=0.01$, post-hoc comparisons: H0.5: $p=0.01$; $H>1$, $p=0.04$), long ($X^2=8.3$, $p=0.01$, post-hoc comparisons: medium: $p=0.004$; short: $p=0.007$) (Fig.1B) and loose (Wilcoxon test, $V=87.5$, $p=0.02$) reins (Fig.2B). Horses spent significantly more time with a high neck (outside: Friedman test, $X^2=22.1$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons: horizontal: $p=0.002$, low: $p=0.0006$, during: $X^2=12.6$, $p=0.001$, post-hoc comparisons: high: $p=0.0007$; horizontal: $p=0.03$) (Fig.3B) and less time with ears forwards ($X^2=8.4$, $p=0.01$, post-hoc comparisons: backwards: $p=0.003$, sideways: $p=0.007$).

At the precise time of horse snorting, there was no preferential hands' position (Friedman test, $X^2=3.8$, $p=0.2$) nor rein tension (Wilcoxon test, $V=161$, $p=0.08$) (Fig.2B) and significantly more medium than short reins (Friedman test, $X^2=9.9$, $p=0.007$, post hoc comparison: $p=0.004$) (Fig.1B). Horses had significantly more backwards ears while snorting ($X^2=20.4$, $p<0.0001$, post-hoc comparisons: forwards: $p=0.001$; sideways: $p=0.001$) and more often a high neck: ($X^2=12.6$, $p=0.001$, post-hoc comparisons: high: $p=0.0007$; horizontal: $p=0.03$) (Fig.3B).

Thus, when comparing riders' and horses' characteristics at the time of snorting and outside, it appears that horses snort mostly when they have a high neck, the ears backwards and the riders have more tight reins.

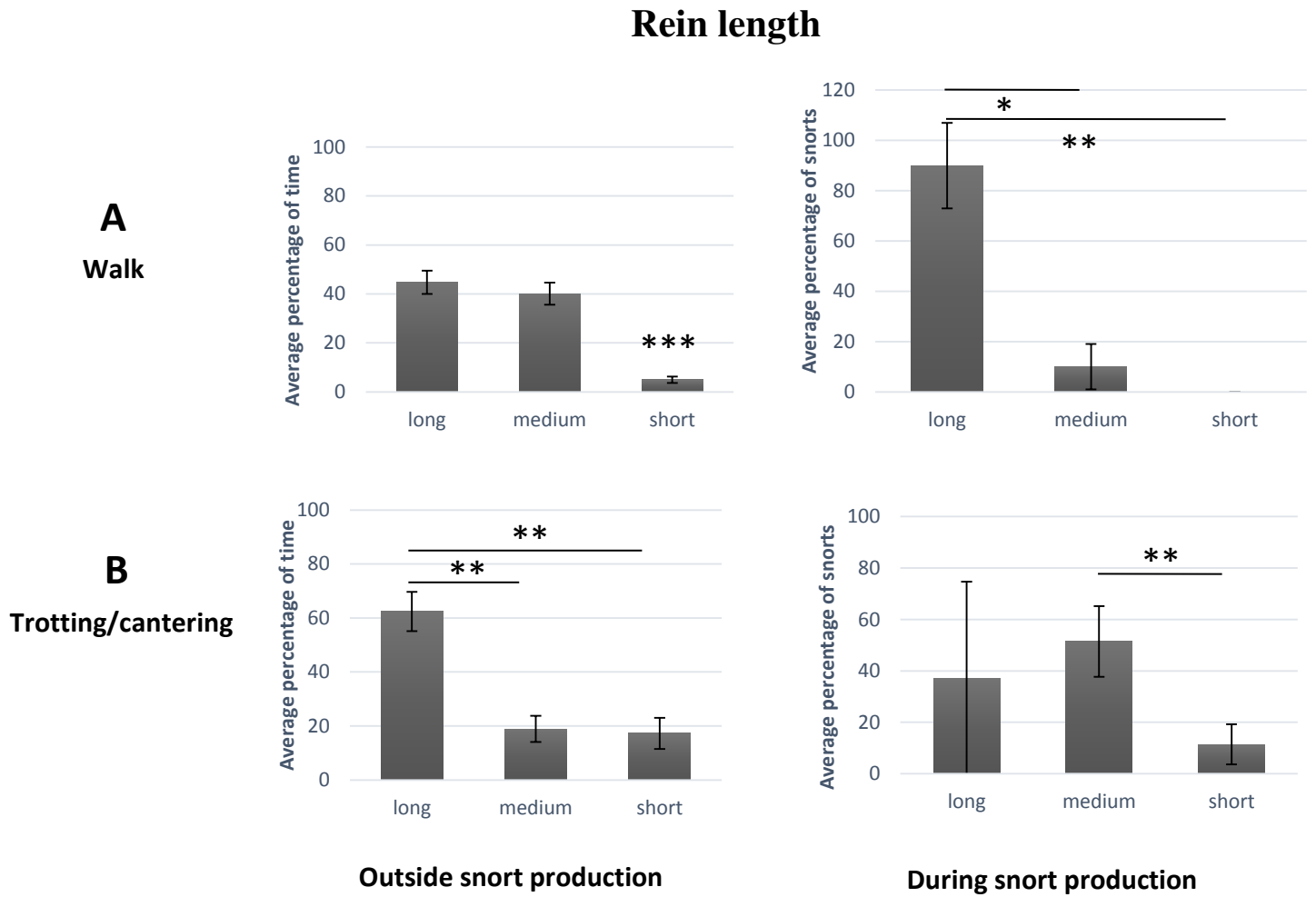
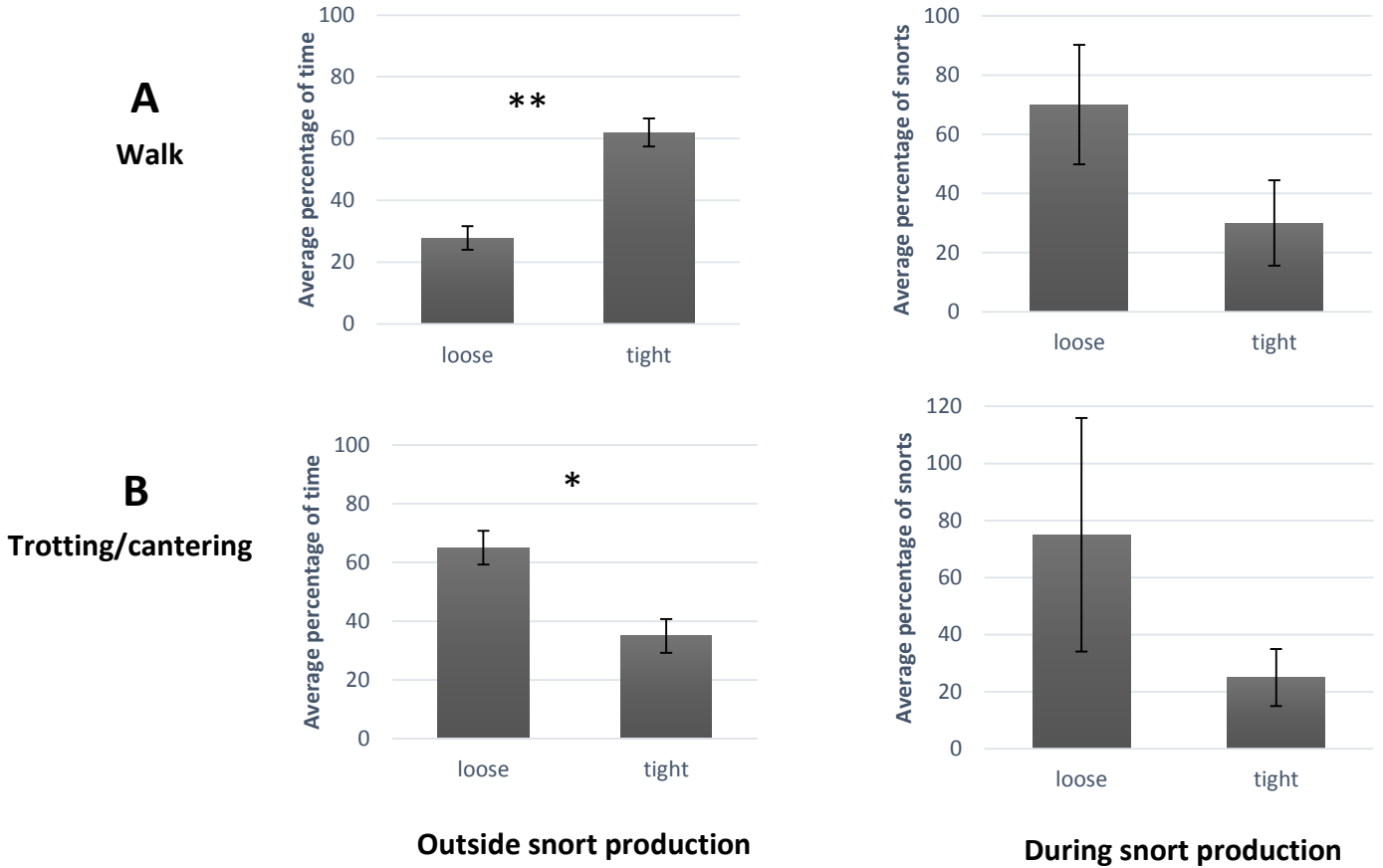


Figure 1: Average percentage of observations recorded according to the rein length outside (on the left) and during the snorting context (on the right); during walking (A) and trotting/cantering (B) phases; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Rein tension



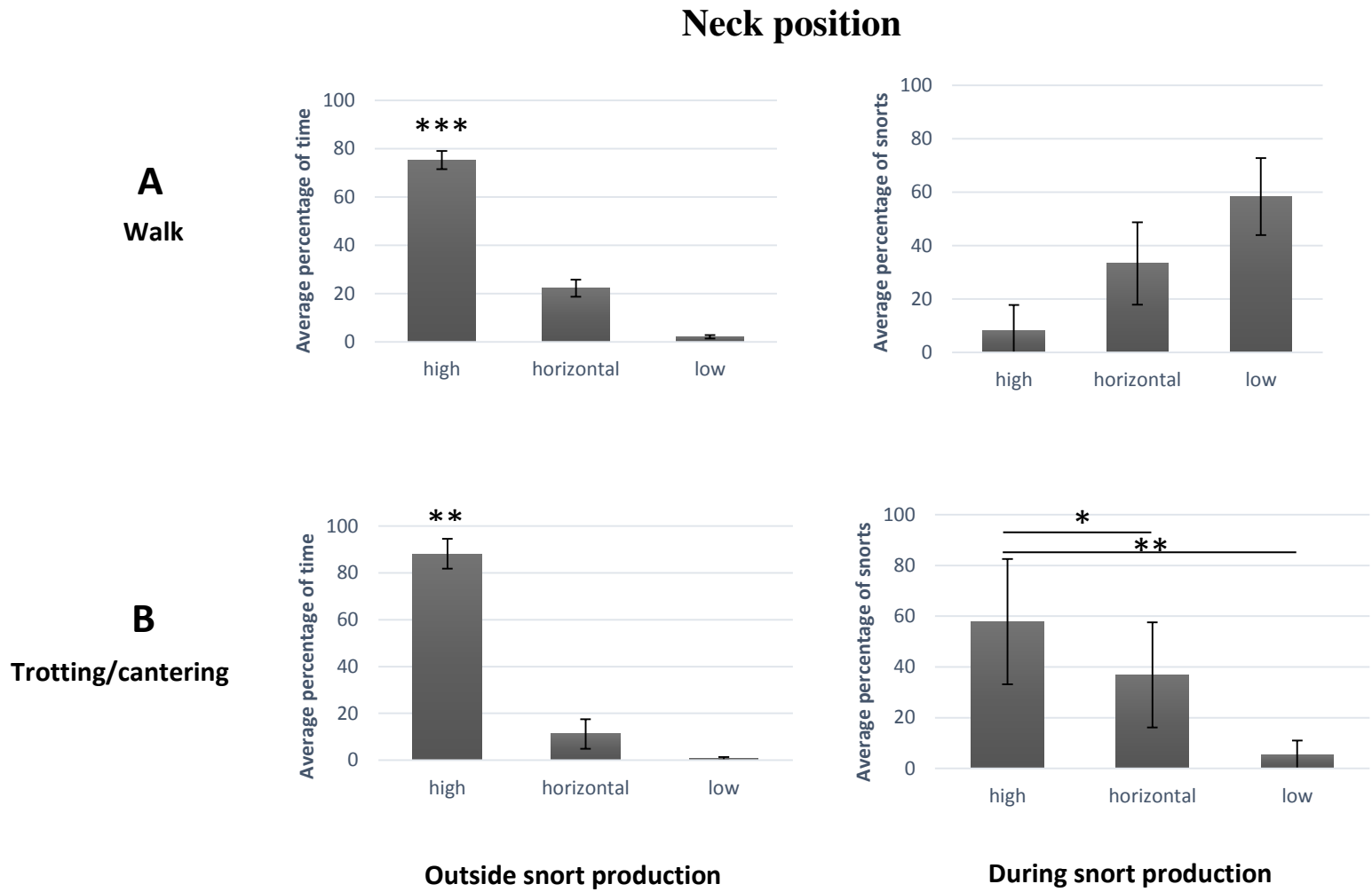


Figure 3: Average percentage of observations recorded according to the neck position outside (on the left) and during the snorting context (on the right); during walking (A) and trotting/cantering (B) phases; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

DISCUSSION

This study investigated for the first time horses' snorts production during riding in relation with riders' and horses' characteristics at the time of production. The results revealed that 1) snorts are rarely produced during riding lessons, 2) their frequency varies between facilities and according to the teacher's recommendations, 3) most of all the riding context is opposite between walk and trot/canter phases. Indeed, while snorts were mostly produced in a more relaxed context (long, loose reins, low neck posture) during walk parts, they were associated with much more tensed contexts in higher locomotion phases (medium reins, high neck, ears backwards).

Differences appeared among the sites studied where snorts were more produced in some facilities than others during riding lessons. This result suggest that maybe snort production was impacted by the working context. In a study where riders' positions and teachers' recommendations were analysed, Lesimple et al. (2010) highlighted that riding technics differed between sites. Most of all, the authors showed that these technics were correlated to horses' back problems. Then we could suggest that, in the present study, horses perceived more or less positively riding according to the riding technics adopted. Indeed, a more positive perception of the environment has been already observed in horses ridden with technics allowing more comfort for the horse (*i.e.* low hands, long and loose reins). On the contrary, Sankey et al. (2010b) observed that horses were able to anticipate a working session and showed that both behaviours (*i.e.* head movements, avoidance) and postures (*i.e.* ears laid back) revealing stress were adopted by horses that experienced a negative reinforcement during learning, associated with an increase of the heart rate. Thus, considering both that snorts were quite rare during lessons and the global riders' and horses' postures observed in our study, one can argue that the working context here does not favour the expression of positive emotions in horses. Observations of the horses' postures outside the snorts production showed that whether

walking, trotting or cantering, horses spent the majority of the lesson with a high neck and expressed scarcely ears forwards, even a majority of ears backwards while trotting or cantering. A high neck has an influence on the caudal back flexibility (Rhodin et al., 2010) and repetitions of this undesirable posture at work may lead to chronic damages of the spine (Ridgway and Harman, 1999). Moreover, we know that backwards ears position reflects a negative emotional state (*e.g.* Ashley et al. 2005). Thus, we can easily suppose that horses experienced negative emotions in this working context.

However, while walking, a contrast was observed at the exact moment of the snort production: horses produced more snorts when the riders had long reins and low hands. Moreover, while the riders spent significantly more time with tight reins during walking in the lesson, snorts were not particularly associated with tight or loose reins and even appeared to be more numerous when riders put less tension in the reins. This is in total agreement with the results of König von Borstel and Glißman's study (2014) and supported by the negative correlation found with the riding teacher's speech in the present study: the more riders stretched the reins, the less snorts were produced. Moreover, snorts were not particularly associated with a high neck position whereas horses spent significantly more time in this position globally while walking, suggesting that snorts were, during walking bouts, a sign of a relaxation state or more exactly a behavioural expression of a release from a stressful situation. Indeed, on one hand snorts have been shown to be more produced while being in a positive internal state (Stomp et al., 2018b). On the other hand, some authors already observed a positive mood during cognitive judgement bias tests in horses (Briefer Freymond et al., 2014) and other domestic animals (sheep: Doyle et al. 2010; Sanger et al. 2011) while being tested just after a negative treatment (*i.e.* negative reinforcement, restrained, social isolation), suggesting then an expression of positive emotions owing to the release from the negative situation. The reported observations

made by Dyson et al. (2018) about horses snorting after improvement in lameness support this hypothesis.

On the contrary, a different picture emerges from the trotting/cantering situation. Although the snort frequency was relatively similar to the one recorded while walking, snorts appeared to be more produced in a constrained situation or at least not in favourable conditions when in higher locomotion phases (*i.e.* no low hands, no long and loose reins). Given the high prevalence of horses' backwards ears and high neck positions we can suppose that snorts may resulted from breathing discomfort in that case. Several studies already pointed out the damages caused by bit pain in horses among those airway obstruction and abnormal inspiratory noise were underlined (Cook, 1999) and notably one study suggested that snort production during riding would be explained by “pain, itching or tingling sensations transmitted by the maxillary nerve to the region of the muzzle” (Cook, 2003). Considering this, we cannot rule out that another type of snort, not necessarily related to a specific emotional content, was emitted following breathing difficulties and/or an excitement of the maxillary nerve due to the bit pressure exerted on the nose while trotting or cantering.

Then, we showed that two types of snort seem to be express during a working session: a snort related to a relaxation state produced at walk when the rider released the reins tension and allowed the horse to lower his neck, and on the other hand a snort that appeared to be more related to physical constraints that may result from the improper riding postures adopted by the beginners or some discomfort related to the bit when trotting or cantering. Thus, the snort meaning in a working context needs to be carefully investigated. We found recently that the snorts' structure could vary according to the horses' internal state (Stomp et al., 2018a). Then one can argue that the two types of snorts, recorded here according to the riding context, could be characterized by two different acoustic structures. However, given that background noises were too important during lessons, we were not able to investigate this and further researches

would be necessary. In this way, to date, it is maybe still premature to say that snorts could be reliably used in order to identify bouts positively perceived by the horses in a working context. However, the production of snorts while trotting/cantering could alert riders about possible physical constraints. Accordingly, some authors highlighted that tight nosebands increased stress in horses (Fenner et al., 2016; McGreevy et al., 2012).

This study investigated for the first time the relationship between snorts production and postures of both the horses and the riders during a working lesson. As expected, at walk, snorts were more associated to a release of the reins tension and a low neck position, thus reflecting a relaxation state. However, snorts heard in a riding context need to be carefully considered and a full observation of both the behaviour and the posture of the horse have to be realise in order to avoid any misleading interpretation. Indeed, snorts associated with a high neck position and a relative tension of the reins could be a sign of discomfort, related to bit pressure and reins tension. This study constitutes a promising approach to investigate the horses' perception of work. Increase both relaxing bouts and attitudes during riding would be a way to promote a positive internal state in horses and this could explain as well the better welfare state observed in leisure horses (Henry et al., 2017). Further studies could be conducted now in order to investigate the impact of discipline on snorts production.

DISCUSSION

Au cours de ce chapitre, nous avons démontré, pour la première fois, que l'ébrouement du cheval n'était pas qu'un simple réflexe hygiénique mais le résultat d'un état émotionnel positif sans doute d'intensité modérée. En effet, les ébrouements sont davantage produits lorsque les chevaux présentent une posture reflétant un état positif calme et relâché (*i.e.* oreilles sur le côté ou devant : Rochais et al., 2014; Sankey et al., 2010c, 2010b; Waring, 2003) associée à des contextes pour lesquels les chevaux montrent une forte motivation (*i.e.* en groupe au pré avec une alimentation *ad libitum* : Lee et al., 2011; Søndergaard et al., 2011) et/ou des activités calmes (*i.e.* exploration, alimentation, observation). Il serait alors le reflet d'un état interne qui se caractérise à la fois par une valence positive et une intensité plutôt faible où l'individu affiche un état relâché, de « contentement » ou de satisfaction (Mendl et al., 2010). L'étude sur la production d'ébrouements lors de séances d'équitation nous a permis de confirmer ce résultat : les chevaux ont produit davantage d'ébrouements, en phase calme ou de récupération, soit lorsque les cavaliers (*i.e.* rênes longues et détendues) leur permettaient d'adopter une posture relâchée (*i.e.* encolure basse), alors qu'ils étaient peu fréquents lorsque que les cavaliers imposaient une posture plus contraignante, pour l'animal (*i.e.* rênes courtes et tendues induisant un port haut de l'encolure) (Ludewig et al., 2013; von Borstel et al., 2009). Par ailleurs, nos observations nous ont permis de conclure qu'il n'existait pas forcément d'impact direct de la qualité de l'air sur la production d'ébrouements étant donné la moindre proportion d'ébrouements enregistrés à l'intérieur des écuries, bien que ce contexte soit plus poussiéreux que le pré. De plus, lorsque les chevaux vivant en extérieur étaient transportés dans un pré où la nourriture était plus abondante, la production était très élevée dans les premières minutes, et diminuait ensuite (observation personnelle). Si la production accrue d'ébrouements était liée à la qualité de l'air, on pourrait s'attendre à une augmentation des ébrouements suite à une exposition continue au pollen par exemple. Il est vrai cependant que d'autres types

d'ébrouements semblent être produits dans des situations moins avantageuses pour l'animal, comme nous avons pu l'observer lors des phases de locomotion intense au cours des reprises d'équitation. Effectivement, dans ce cas, l'ébrouement pourrait être davantage une conséquence d'une contrainte physique associée à un équipement (*e.g.* muserolle, mors) mal adapté.

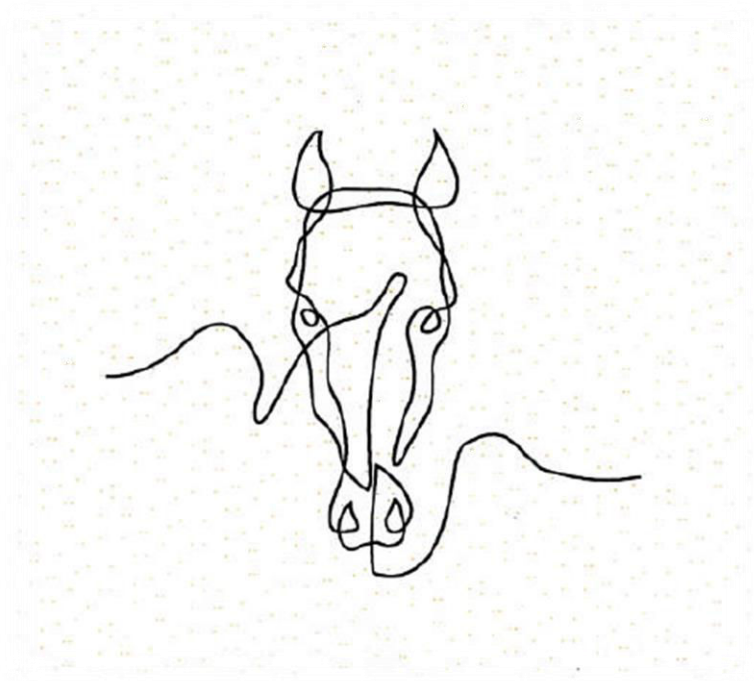
Une analyse de la structure acoustique des ébrouements recueillis en centre équestre nous a permis d'identifier, par ailleurs, deux types d'ébrouements, différenciables par la présence d'une structure vibrée ou non. Dans les deux cas, ils sont préférentiellement émis dans des contextes positifs (*i.e.* état interne positif), mais ils se différencient sans doute en termes d'intensité émotionnelle. Les ébrouements vibrés étaient en effet caractéristiques d'une situation positive de plus forte intensité pour le cheval (*i.e.* au pré et les oreilles en avant) par rapport aux ébrouements non vibrés. Ces résultats semblent confirmer de fait un encodage acoustique de l'état émotionnel chez le cheval comme chez d'autres ongulés (Briefer, 2012) et ouvrent surtout de nouvelles perspectives quant à l'utilisation des sons non-vocaux dans l'évaluation des émotions positives chez l'animal. Si la littérature s'accorde sur des variations de certains paramètres acoustiques des vocalisations lors de situations positives telles qu'une diminution de la durée (Briefer et al., 2015a; Taylor et al., 2009) et de la fréquence fondamentale (Briefer et al., 2015a) ou encore une augmentation de l'amplitude (Yin et McCowan, 2004), nous suggérons ici que la présence de vibrations au sein du signal acoustique, de façon homologue aux ronronnements produits par les primates ou les félins, soit témoin en outre d'un état émotionnel positif (Fichtel et al., 2001; Volodina, 1997). Il serait donc particulièrement intéressant de pouvoir analyser les structures acoustiques des ébrouements enregistrés lors des séances d'équitation, afin de pouvoir vérifier les variations de contextes de production observés lors des phases de relâchement d'une part ou de travail d'autre part. En effet, l'identification des deux types d'ébrouements n'a pas pu être réalisée dans l'ensemble de nos études due à une mauvaise qualité d'enregistrements.

Les résultats révèlent enfin que l'état de bien-être des chevaux pouvait être un facteur de modulation de la production d'ébrouements : moins l'état de bien-être est altéré, plus les individus produisent des ébrouements en conditions favorables (*i.e.* pré). Comme on le sait, l'état chronique d'un individu peut avoir un impact sur son appréciation d'une situation donnée (Paul et al., 2005) : chez le cheval, une étude a récemment montré que des chevaux avec un état de bien-être préservé montraient un biais positif de jugement (*i.e.* optimiste), suggérant en conséquence une perception plus positive de leur environnement, à l'inverse des chevaux présentant un état de bien-être dégradé, qui eux étaient plus pessimistes (Henry et al., 2017). D'après Mendl (2010), si un individu évolue dans un environnement plutôt sûr (sans danger) et s'il est peu exposé à des événements négatifs (*i.e.* punitions pouvant notamment présenter une menace pour la fitness de l'individu), alors pourra émerger chez cet individu un état positif de faible intensité durable, en d'autres termes une humeur positive. Nous suggérons ainsi qu'au cours de notre étude, les chevaux en état de bien-être étaient caractérisées par une humeur plus positive que les individus en mal-être, favorisant alors l'expression d'émotions positives et par conséquent la production d'ébrouements.

Pour résumer, les résultats obtenus confirment que les signaux acoustiques sont bel et bien la traduction d'expériences subjectives déterminées par la perception d'une situation par l'animal et non pas par les conditions en elles-mêmes (Manteuffel et al., 2004; voir aussi Salzen, 1998), et soulignent l'importance du contexte dans lequel sont mesurées les émotions positives. Il semble en effet difficile d'espérer identifier des marqueurs d'émotions positives dans des situations ne favorisant pas leur émergence, c'est-à-dire des situations où l'état de bien-être peut être compromis.

Chapitre 6

Discussion-Conclusions



6. Discussion générale

Nous avons pour objectif, dans cette recherche, d'identifier et valider des indicateurs d'émotions positives chez le cheval.

Au terme de ce travail, nos résultats indiquent, tout d'abord, que les comportements exprimés au cours de la phase d'anticipation alimentaire, dans sa globalité, ne constituent pas un indicateur fiable d'émotions positives. Bien que les réponses comportementales observées dans cette situation se caractérisent par une augmentation d'intensité, la phase d'anticipation, au moins quand elle est durable, serait davantage le reflet de frustration et donc d'émotions à valence plutôt négative. Les résultats électroencéphalographiques obtenus par ailleurs, quand l'animal est face à un stimulus alimentaire, suggèrent que l'état positif dans cette attente pourrait ne durer que quelques secondes. De surcroît, le niveau d'intensité des comportements observés au cours de cette situation semble bien être relié à l'état chronique des individus puisqu'il augmente avec leur état de mal-être chronique. Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence qu'une modification des habitudes de routine alimentaire, et notamment la mise en place d'une imprédictibilité des événements, augmentait l'activité motrice journalière au moins à court terme (une semaine) (Chapitre 3). Ensuite, nos travaux ont mis en exergue l'intérêt de considérer l'électroencéphalographie dans la mesure des émotions positives. Grâce à cette technique, nous avons pu identifier un profil d'activité cérébrale associé à une attention soutenue vers un stimulus positif. Par ailleurs, nos résultats indiquent un impact de l'état de bien-être sur les caractéristiques attentionnelles des chevaux et notamment soulignent l'importance d'évaluer la fragmentation de l'attention (Chapitre 4). Enfin, ce travail a permis de révéler un indicateur acoustique inattendu d'émotions positives chez le cheval : l'ébrouement. Une analyse plus détaillée de la structure acoustique de ce son non-vocal indique que la présence de pulsations semble être associée à une situation d'autant plus appréciée par

les chevaux. Ce nouvel indicateur s'impose alors comme un moyen d'évaluer de quelle façon les chevaux perçoivent une situation, tel que le travail (Chapitre 5).

1) Remise en cause des comportements d'anticipation

Au regard de nos différentes études menées sur la situation d'anticipation, nous suggérons que les comportements d'anticipation d'un événement positif ne constituent pas un indicateur fiable d'émotions positives. En accord avec les précédentes études conduites à ce sujet sur diverses espèces (Moe et al., 2006; Peters et al., 2012; van der Harst et Spruijt, 2007; Vinke et al., 2004), nous avons pu observer que les comportements d'anticipation se caractérisaient, chez le cheval, par une augmentation significative de l'activité locomotrice, accompagnée de nombreuses transitions comportementales et posturales, et, selon les chevaux, une attention soutenue vers la source de l'évènement positif ou, au contraire, un détournement actif de la vue du stimulus. A l'image également de ces précédentes études, il apparaît que cette situation soit également associée à l'expression de comportements anormaux répétés et stéréotypiques. Une seule étude avait jusqu'alors tenté de caractériser les comportements d'anticipation chez le cheval (Peters et al., 2012). Si, dans cette étude, plusieurs comportements anormaux répétés avaient été observés au moment du nourrissage (*i.e.* tic à l'appui, tic à l'ours), les auteurs supposent que ces comportements n'ont pas été directement causés par l'anticipation mais étaient plutôt le résultat de comportements s'étant développés au plus jeune âge, au moment du sevrage (*i.e.* lorsque les individus sont isolés et que l'apport en fourrage est insuffisant). Nos résultats prouvent, au contraire, que l'expression des comportements stéréotypiques varie selon plusieurs paramètres directement liés à la situation d'anticipation alimentaire. Nous avons, en effet, pu analyser que ces comportements s'exprimaient davantage dans les 30 secondes précédant l'arrivée de nourriture. Par ailleurs, la présence de fourrage dans

le box diminuait leur occurrence. Ainsi, il semblerait bien que l'expression des comportements anormaux et stéréotypiques soit directement le résultat de l'état émotionnel des chevaux face à cette situation d'anticipation. Ces comportements seraient plutôt le reflet d'un état de frustration dû à un manque de ressources alimentaires, à un état de mal-être chronique et à une attente prolongée de la « récompense ». Nos résultats ont en effet souligné un impact majeur du temps d'attente sur les comportements d'anticipation : en situation critique de besoins alimentaires (*i.e.* estomacs vides). En effet, plus le temps d'attente à recevoir la nourriture était important, plus les chevaux exprimaient des comportements (*i.e.* orientation vers le fond du box) et postures (*i.e.* oreilles en arrière) associés à un état émotionnel négatif. Aussi, une augmentation significative des comportements d'excitation et des transitions comportementales a été décelée entre les 30 premières et 30 dernières secondes de l'anticipation. Le temps écoulé entre le signal annonçant l'arrivée de l'évènement positif et la distribution effective de la ressource apparaît alors être le point clé de l'analyse de cette situation. Selon sa durée, le temps modulerait la valence de l'état émotionnel des individus. Ainsi, un état émotionnel probablement positif à l'apparition du signal se transformerait, au fil des secondes qui s'écoulent, en un état négatif associé à de la frustration et du stress. L'évolution des profils EEG observés au fil du temps lors de l'anticipation de nourriture au cours de nos travaux menés sur l'attention supportent complètement cette hypothèse, et démontrent un basculement extrêmement rapide (*i.e.* en 6 secondes) de l'état interne des sujets. Une étude menée chez la poule pondeuse a comparé les comportements d'anticipation d'un évènement positif (nourriture), neutre (rien) et négatif (jet d'eau). Contrairement aux résultats couramment observés, une augmentation de l'activité locomotrice a été mesurée pour les stimuli neutre et négatif, mais pas pour l'anticipation de nourriture. En revanche, cette situation a été associée à une augmentation des comportements de confort (*e.g.* lissage des plumes, battement d'aile), suggérant une relaxation de l'animal. Les auteurs expliquent cette différence par le temps relativement court (*i.e.* 15 secondes) utilisé

entre le signal et l'accès à la nourriture dans leur procédure, contrairement aux temps habituellement observés dans les autres études, beaucoup plus longs (généralement entre 1 et 10 minutes), et donc source de frustration (Zimmerman et al., 2011). En ce sens, il apparaît que l'aspect temporel des émotions prend tout son sens dans cette situation d'anticipation. Alors, par ailleurs, nous suggérons que dans le cadre de la phase d'anticipation, le terme de « ressource convoitée » serait plus approprié que celui de « récompense », habituellement utilisé dans la littérature à ce sujet, pour définir l'évènement positif en jeu. En effet, dans une procédure de conditionnement classique, une « récompense » n'a de sens que si elle est délivrée à l'animal dans les premières secondes suivant l'expression du comportement attendu (Skinner, 1938). Ce terme inclus que l'animal doit agir pour obtenir la ressource en question, il peut donc contrôler son acquisition. Or, à l'inverse, en situation d'anticipation, aucun contrôle n'est possible de la part de l'individu, qui ne dispose d'aucun moyen d'action pour obtenir la ressource convoitée, ce qui doit renforcer sa frustration.

Selon Ernst et al. (2006), si on ne donne pas la possibilité aux animaux de pouvoir acquérir une récompense dans un court délai, alors l'attente passive peut-être source de stress due à la perte de contrôle sur les événements. De plus, « the appraisal theory » proposée par Scherer et al. (2001) stipule que les émotions sont le résultat de l'appréciation de l'individu d'une situation donnée, impliquant un ensemble de vérifications incluant : la pertinence de la situation (sa soudaineté, sa prédictibilité et son plaisir intrinsèque), ses implications pour l'individu (y compris sa cohérence avec les attentes de l'individu), son potentiel de contrôle et enfin, ses normes à la fois internes et externes. Ainsi, dans une étude où des agneaux ont été exposés à une situation leur permettant, ou non, de contrôler un flux d'air les empêchant de s'alimenter, Greiveldinger et al. (2009) ont montré que l'incapacité de contrôle sur la situation entraînait une augmentation du temps passé les oreilles en arrière. Par ailleurs, une étude a comparé le niveau de perception de la douleur chez des rats soumis à une distribution prédictible

de nourriture pouvant être contrôlée par l'individu via la pression d'un levier, ou non. Les chercheurs ont alors montré une hypoalgésie pour le groupe de rats n'ayant pas de contrôle de la distribution de nourriture, bien que prédictible, démontrant ainsi une activation du système endogène d'inhibition de la douleur lorsque les animaux se trouvaient dans l'incapacité de faire face aux événements (Tazi et al., 1987). Ainsi, le système biologique de la récompense ne serait pas le seul et unique mécanisme en jeu lors de l'anticipation, lorsque l'environnement et les événements positifs qui en découlent sont contrôlés par l'Homme et non par l'animal. Or, beaucoup d'études s'appuient aujourd'hui sur cette situation comme seul contexte d'émotions positives. Cette étude remet ainsi en question l'aspect expérimental de plusieurs recherches conduites sur l'identification/perception d'émotions positives chez l'animal (*e.g.* Baciadonna et al., 2018; Brieffer et al., 2015b; Maigrot et al., 2017). La multiplication de contextes positifs d'intensité similaire s'avère alors primordiale pour valider, à terme, les observations réalisées et conclure quant à leur association avec un état émotionnel positif.

La notion de frustration a déjà été évoquée dans une situation de distribution alimentaire où les individus étaient servis un à un. Chez des primates non-humains, une augmentation de la concentration en cortisol a même été mesurée chez les individus non-servis mais pouvant voir leurs congénères recevoir de la nourriture (Mason, 1971). Chez le cheval, une augmentation des comportements stéréotypiques (Cooper et al., 2005) conjointe à une augmentation des bâillements (Fureix et al., 2011a) ont été, par ailleurs, identifiées avant la distribution du repas lorsque les individus observaient leurs congénères se faire nourrir, alors qu'aucune augmentation n'a été relevée quand la nourriture était distribuée à tous les individus en même temps par un système automatique (Fureix et al., 2011a). Par ailleurs, les auteurs remarquent que ces comportements ont été également observés en dehors des repas, surtout l'après-midi lorsque la portion de foin avait déjà été consommée par les chevaux. Ainsi, outre l'aspect frustrant de voir ses congénères être servis avant soi, il semblerait que ces « activités de

substitution » apparaissent aussi en conséquence de conditions de vie impliquant confinement, isolement social et restrictions alimentaires (*e.g.* McGreevy et al., 1995). Lors de notre étude, nous avons pu établir en effet des corrélations particulièrement intéressantes entre les comportements d'anticipation observés et le temps passé par le cheval dans l'établissement d'une part, et son état de bien-être d'autre part. Une augmentation de l'excitation associée à une position d'oreille majoritairement en arrière et l'expression de comportements stéréotypiques semblent réellement témoigner des difficultés d'adaptabilité du cheval aux conditions qui lui sont offertes et, par conséquent, d'un état de bien-être altéré.

Selon Spruijt et al. (2001), l'expression de comportement d'anticipation est en elle-même gratifiante pour l'animal puisqu'elle active le système de la récompense. Par ailleurs, l'absence de ces comportements témoignerait d'un état d'anhédonie, traduisant un état de mal-être. Ainsi, les auteurs prônent l'exposition récurrente des animaux à ce contexte dans le but d'induire régulièrement des émotions positives et par conséquent maintenir leur état de bien-être (van der Harst et al., 2005). A l'inverse, nos résultats indiquent qu'une augmentation des épisodes d'anticipation (traduite par le temps passé dans l'établissement) résulte en une intensification des comportements de frustration au moment même de l'anticipation. De plus, nous avons pu observer que, plus l'état de bien-être était altéré, plus les chevaux exprimaient une sensibilité graduelle à la survenue de l'évènement positif, traduite par une augmentation des comportements d'excitation/frustration et des comportements anormaux répétés. Ces résultats rappellent le constat réalisé chez les dauphins, où une augmentation des comportements d'anticipation a été mesurée chez des individus pessimistes présentant des signes d'altération du bien-être (Clegg et Delfour, 2018). Ainsi, il semblerait effectivement qu'une intensification des comportements d'anticipation reflète, un déséquilibre en faveur des expériences négatives vécues par l'individu et donc une dégradation de l'état de bien-être (Watters, 2014). Nous réfutons, en revanche, l'hypothèse qu'une exposition régulière à des

situations d'anticipation d'évènements positifs soit bénéfique pour l'animal, étant donné l'état émotionnel observé dans cette situation. De plus, nous contestons le fait que l'expression de comportements d'anticipation témoigne d'un état chronique acceptable.

Les chevaux de centre équestre n'ayant aucun contrôle sur le déroulement des évènements et devant faire face à des restrictions alimentaires et une attente de la nourriture parfois longue (de l'ordre de plusieurs minutes au moins), tout en ayant une vue sur les autres individus potentiellement servis en amont, nous suggérons que les comportements relevés dans cette situation résultent majoritairement d'un état émotionnel négatif mêlant stress, frustration et reflétant un échec d'adaptation face à la situation (Waitt et Buchanan-Smith, 2001). **Bien que l'expression d'émotions positives ne soit pas impossible dans les quelques secondes suivant la diffusion du signal, il apparaît délicat, compte tenu de nos observations, de considérer les comportements d'anticipation d'un évènement positif comme un indicateur fiable d'émotions positives. Il apparaît, en revanche que le niveau d'intensité des comportements observés dans cette situation soit indicateur de l'état de bien-être des individus. Ainsi, une augmentation de la sensibilité à l'évènement positif, induite par des conditions de vie sous-optimales, se caractériserait par une intensification des comportements typiques de l'anticipation. En revanche, nous contestons que l'expression en elle-même des comportements d'anticipation soit indicateur d'un état chronique acceptable.**

2) Emergence d'indicateurs fiables d'émotions positives

Indéniablement, la situation d'anticipation prouve que l'état émotionnel éprouvé à un temps t évolue rapidement, augmentant alors les risques d'erreurs quant à la mesure des émotions. Un comportement ou une réponse physiologique ainsi mesurés peuvent, d'une

seconde à l'autre, exprimer deux états émotionnels aux dimensions opposées. Ainsi, le développement de mesures précises sont nécessaires afin d'essayer de caractériser au mieux l'état émotionnel immédiat d'un individu et de pouvoir mettre en évidence des indicateurs fiables d'émotions positives. Dans cette optique, l'utilisation de l'électroencéphalographie apparaît très pertinente. Notre étude a, en effet, permis d'établir des profils EEG, précis à la seconde près, chez nos chevaux dans une situation d'attention visuelle envers un stimulus de valence contrôlée. De par la latéralité hémisphérique observée, mais aussi le type d'onde cérébrale produit, l'enregistrement de l'activité cérébrale face à un stimulus ou une situation donnée constitue un moyen efficace de définir respectivement la valence et l'intensité de l'état émotionnel de l'animal. Ainsi, l'utilisation de cet outil méthodologique nous a permis de (i) confirmer l'importance de l'hémisphère gauche dans le traitement des émotions positives et de l'hémisphère droit dans le traitement attentionnel, (ii) mettre en évidence le rôle majeur des ondes thêta lors d'un traitement cognitif attentionnel, (iii) souligner l'interaction des processus émotionnels et attentionnels chez le cheval. Si nombreuses sont les évidences de l'influence des émotions sur l'attention chez l'Homme (Raymond, 2009; Taylor et Fragopanagos, 2005; Todd et al., 2012; Vuilleumier, 2005) et de leur système cérébraux simultanés (Gray, 1990), peu d'études ont encore été menées à ce sujet chez l'animal, et encore moins concernant l'impact des émotions positives. Nous savons, en effet, que le contenu émotionnel d'un stimulus influence les mécanismes d'attention sélective (Raymond, 2009), permettant alors à l'individu de traiter prioritairement des stimuli pertinents pour lesquels il montrera une motivation et un intérêt particuliers à y répondre. Différentes études ont pu démontrer le rôle important de l'amygdale dans les processus attentionnels (Davis et Whalen, 2001; Vuilleumier, 2005). Son implication dans les processus de mémorisation a, par ailleurs, été démontrée, et ce indépendamment de la valence positive ou négative du stimulus (Hamann et al., 1999). Ainsi, chez l'animal, une augmentation de la vigilance (ici en termes de niveau d'attention) peut avoir

lieu aussi bien en réponse à des stimuli négatifs (*e.g.* présence d'un prédateur) que positif (*e.g.* présence d'un partenaire sexuel, détection d'une source de nourriture) (Paul et al., 2005), suggérant alors que l'intensité suscitée par la situation, plus que sa valence, ait peut-être un impact plus important d'un point de vue cognitif. Ceci dit, la plupart des études tentant de caractériser les réponses physiologiques en lien avec les émotions (négatives principalement) ont recours à des stimuli émotionnels très intenses (*e.g.* peur), car ils optimisent les chances de susciter une réaction chez l'animal. Notre étude constitue une première évidence neurophysiologique que l'attention d'un animal peut être davantage stimulée par une émotion positive en comparaison à une émotion négative suscitée par un stimulus négatif non menaçant. **Ce résultat confirme premièrement l'importance d'un traitement cognitif des émotions chez l'animal. Deuxièmement, il permet de mettre en avant qu'une attention visuelle soutenue vers un stimulus à la fois pertinent et attractif pour l'animal se traduit par une activation majoritaire des ondes thêta dans l'hémisphère gauche. Ainsi, la mise en évidence de ce corrélat neurophysiologique pourrait s'avérer particulièrement intéressante dans l'évaluation de l'état interne des animaux face à une situation ambiguë, telle que l'anticipation alimentaire par exemple.**

Enfin, notre étude a révélé l'existence d'un indicateur comportemental acoustique jusqu'alors complètement inexploré chez le cheval. L'ébrouement apparaît en effet être particulièrement produit dans des contextes favorables pour les individus, comme le reflètent les postures et activités associées à l'expression de ce comportement. Cette découverte renforce véritablement l'importance de considérer les signaux acoustiques comme le reflet de l'état interne des individus et ouvre ainsi la voie vers de nouvelles recherches, concernant notamment les sons non-vocaux, très peu étudiés jusqu'à présent. Ces productions acoustiques, liées au système respiratoire, peuvent effectivement être clairement indicatives des changements

biologiques s'opérant dans l'organisme suite à l'exposition de l'individu à un stimulus ou une situation provoquant un éveil émotionnel. Il est, en effet, indéniable que respiration et émotion, notamment positives, soit liées (Boiten et al., 1994) et Rehwoldt (1911), cité dans Boiten et al. (1994), avait déjà observé qu'un affect positif calme avait tendance à engendrer de plus longues expirations qu'inspirations chez l'Homme. De plus, plusieurs études ont déjà évoqué le lien entre soupir et relâchement que ce soit chez l'Homme (Mcclernon et al., 2004) ou l'animal (rats : Soltysik et Jelen, 2005). Les longues inspirations et expirations permettent alors de favoriser les échanges gazeux afin de restaurer l'homéostasie. La présence de vibrations détectées au sein des ébrouements produits par les chevaux au cours de notre étude lors de situations très favorables pourrait ainsi indiquer un état de réel relâchement provoquant une expiration profonde et entraînant avec elle une vibration importante des naseaux. Nous supposons alors que cette expiration marquée intervienne à la suite d'un éveil émotionnel positif pouvant découler d'évènements de différentes natures (*e.g.* exposition à une situation hautement favorable, comme la mise au pré ; libération d'une contrainte, comme observé dans le contexte d'équitation) et permettrait ainsi à l'organisme de rétablir l'homéostasie. D'après Cabanac (1979), et sa recherche sur la caractérisation du plaisir, toute réponse comportementale ou physiologique qui implique un retour à l'homéostasie sera associée à du plaisir.

D'autre part, nos travaux ont montré que la production d'ébrouements était fréquente chez les individus en bien-être en conditions favorables et calmes (*e.g.* au pré, en groupes sociaux), suggérant alors qu'au-delà d'une réponse physiologique liée à un retour à l'équilibre, l'ébrouement pourrait simplement être le reflet d'une adéquation entre les attentes et besoins d'un individu et la réalité de sa situation. Cette congruence pourrait alors résulter en un état interne positif plus durable et que l'on pourrait replacer dans le quadrant Q2 du « core affect » (voir Fig.3, chapitre 1) proposé initialement par Russell et Barrett (1999) et adapté par Mendl (2010). C'est à dire un état relâché, de satisfaction. L'ébrouement serait ainsi davantage émis

par des individus dont l'état interne durable est de valence positive et d'intensité plutôt faible (Mendl et al., 2010).

Ainsi l'ébrouement (hors contrainte respiratoire liée à une maladie ou à un équipement mal ajusté) serait un marqueur fiable d'émotions positives d'intensité modérée chez le cheval, puisqu'il exprimerait une perception positive de l'individu de son environnement. En effet le lien établi ici entre production d'ébrouements et état de bien-être des individus corrobore cette affirmation. Si nous savons désormais qu'un individu en bien-être évaluera plus positivement son environnement (e.g. Henry et al., 2017), alors le fait d'observer que les chevaux en état de bien-être ont produit davantage d'ébrouements en situation favorable confirme que l'ébrouement est le reflet d'émotions positives. Un autre résultat majeur est l'observation que ces son non-vocaux sont quasi-absents en situation défavorable, comme le box. Ceci pourrait expliquer les difficultés récurrentes à caractériser des émotions positives : identifier ces émotions chez des animaux en conditions de vie très restrictives ou en état de mal-être s'avère être potentiellement impossible. Peu d'études disposent de populations « de référence » qui permettraient de mieux cerner les moments d'émotions positives. Ceci pourrait aussi expliquer l'engouement pour les situations d'anticipation alimentaire, seul moment où les individus sont confrontés à un apport positif clair. Seulement, comme indiqué ci-dessus, cet apport est tellement convoité qu'il crée des états d'excitation changeant du positif vers le négatif.

3) De nombreuses applications

L'ensemble des recherches menées dans ce travail ouvrent vers des perspectives d'applications intéressantes dans le milieu équin, mais aussi d'un point de vue fondamental et méthodologique.

L'utilisation d'accéléromètre nous a donné la possibilité d'évaluer automatiquement et précisément l'activité locomotrice des juments par tranche de 15 minutes. Même si nos mesures mériteraient d'être complétées par des observations comportementales (en préparation), il est apparu toutefois que l'inversion de l'ordre de distribution ait induit une augmentation de l'excitation des juments habituellement servies en premières. Ce résultat souligne une nouvelle fois l'impact délétère d'une attente trop longue de l'arrivée de nourriture après l'apparition du signal. **Ainsi, il semblerait qu'un système de distribution simultanée de l'ensemble des chevaux soit une solution intéressante dans le but de réduire au maximum l'apparition de cet état interne négatif. Ceci dit, l'excitation excessive des animaux face à ces repas est aussi liée à des manques (fourrage en particulier) et des états de mal-être globaux. La meilleure solution resterait donc, dans tous les cas, de répondre aux besoins physiologiques du cheval, et pour l'alimentation, de faire en sorte que des fibres (foin ou herbe) soient disponibles de façon quasi-continue.**

Si nous avons pu voir en introduction que l'utilisation d'indicateurs physiologiques était délicate car plusieurs d'entre eux pouvaient mener à des résultats contradictoires, nos travaux supportent en revanche l'utilisation de l'électroencéphalographie en tant que mesure de l'état émotionnel. Sans contrainte pour l'individu, cet outil semble particulièrement prometteur puisqu'il offre une possibilité de mesures de l'ordre de la seconde, voire de la milliseconde. Considérant la rapidité des phénomènes biologiques relatifs aux émotions (Vuilleumier, 2005), il est intéressant de souligner que cet outil permet de caractériser l'évolution de l'état interne d'un animal au fil du temps. Par-dessus tout, il offre la possibilité de pouvoir distinguer clairement intensité et valence d'un état émotionnel, condition cruciale et jusqu'alors difficile à obtenir via les mesures physiologiques et comportementales habituellement proposées. **La mesure de l'activité cérébrale via l'EEG apparaît ainsi être une méthode clairement adaptée à l'étude des émotions. Nos travaux soulignent par ailleurs qu'une attention**

particulière devrait être apportée à l'activité de l'hémisphère gauche et des ondes thêta en lien avec les émotions positives.

De plus, la mise en avant d'une stimulation de l'attention par l'évocation d'émotions positives est un résultat qui confirme d'autant plus l'intérêt de favoriser un environnement positif lors de l'apprentissage. L'attention soutenue a en effet été évoquée comme le processus principal liant mémoire de travail et capacités d'apprentissage (Cowan, 1997). **Ainsi, augmenter l'intérêt de l'animal grâce à l'utilisation d'un stimulus positif pourrait s'avérer particulièrement efficace en termes d'apprentissage et de performances, comme cela a déjà été évoqué par plusieurs études chez le cheval (Rochais et al., 2014; Sankey et al., 2010b, 2010c).**

Si les émotions ont un impact sur l'attention, il s'avère par ailleurs que les caractéristiques attentionnelles soient aussi directement façonnées par l'état de bien-être des chevaux. Plusieurs études avaient déjà démontré une diminution de l'attention envers l'environnement chez des chevaux en stress chronique (Hall et al., 2008; Rochais et al., 2016a, 2016b). Ici, nous avons pu observer qu'une diminution de la fragmentation de l'attention témoignait d'une altération de l'état de bien-être des individus. **Ainsi, le test d'attention visuelle développé par Rochais et al. (2017b) constitue un outil simple et efficace de mesure de l'état de bien-être, à condition qu'il soit réalisé sans présence humaine.** Un effet d'audience a effectivement pu être établi lors de la présence d'un expérimentateur dans le box au moment du test. Dans ce cas, les individus ont montré un niveau d'attention plus soutenue vers le stimulus. **Cette condition serait en revanche un moyen efficace de mesurer le conditionnement des individus à se concentrer face à une tâche proposée par un humain et par conséquent établir leurs capacités attentionnelles au travail (Rochais et al., 2017b).**

Enfin, l'ébrouement constitue un indicateur d'émotions positives facilement utilisable sur le terrain. Notre étude a permis de démontrer que l'oreille humaine était capable de

différencier ses propriétés acoustiques et clairement distinguer les ébrouements vibrés et non vibrés. **Cet indicateur acoustique pourrait ainsi permettre d'aider les propriétaires et autres utilisateurs de chevaux à identifier et évaluer les situations appréciées par leur animal. Par ailleurs, l'absence de production de ce signal acoustique dans des situations clairement favorables aux chevaux (e.g. en groupe sociaux, au pré) pourrait également alerter sur leur état de bien-être.**

4) Perspectives

La question de l'impact d'un environnement prédictible ou non sur le bien-être des animaux est encore aujourd'hui débattue. Selon « the appraisal theory », l'imprédictibilité est source d'émotions négatives car elle entraîne une perte de contrôle sur les événements (Désiré et al., 2002; Scherer et al., 2001; Veissier et al., 2012) et donc pourrait à terme altérer le bien-être des individus. Pour d'autres, elle permet au contraire de diminuer la frustration liée à l'attente constante des événements positifs et permet alors le développement d'une palette plus large de comportements, nécessaires au maintien du bien-être (Bloomsmith et Lambeth, 1995; Waitt et Buchanan-Smith, 2001). En effet, aujourd'hui, plusieurs études promeuvent l'implantation en zoo d'une complexité environnementale (incluant des horaires de nourrissage imprédictibles) comme enrichissement dans le but, par exemple, de réduire les comportements anormaux associés aux phases d'anticipation (Mason, 2010; Rose et al., 2017). Ce rythme serait en effet davantage en accord avec celui normalement observé en conditions naturelles pour certaines espèces, comme les dauphins dont l'activité journalière est fortement influencée par la recherche de nourriture et la disponibilité en proie (Mendes et al., 2002). Notre étude basée sur l'utilisation d'accéléromètre nous a permis d'observer que la mise en place d'horaires de nourrissage imprédictibles pour les chevaux permettait, certes, de supprimer le pic d'activité observé habituellement 15 minutes avant l'horaire prédictible, mais aussi, augmentait significativement à court terme l'activité locomotrice sur l'ensemble de la journée, indiquant

alors globalement un niveau d'activation plus distribué plutôt qu'une diminution de la frustration. Une vue permanente des juments sur l'environnement extérieur et les activités humaines a pu, de surcroît, induire une perception de faux-signaux, engendrant alors des réactions aversives de frustration (Amsel, 1958). Il est apparu cependant que cet effet n'a pas perduré pour la deuxième semaine d'imprédictibilité, suggérant une certaine capacité d'adaptation et de flexibilité chez cette espèce. Toutefois, en deuxième semaine d'expérience, seuls des avances et aucun retard sur l'horaire de nourrissage habituel ont été testés. **Il serait alors intéressant de pouvoir prolonger cette expérience en associant les mesures des accéléromètres à des observations comportementales à la fois au moment et en dehors des phases de nourrissage afin de pouvoir conclure avec certitude sur l'effet d'un environnement imprédictible sur le bien-être des chevaux. Par ailleurs, des mesures de l'activité EEG des individus lors de la phase d'anticipation des repas pourraient permettre également d'apporter des informations cruciales sur la perception des chevaux de cette situation.**

L'ébrouement était considéré, jusqu'à présent, comme un simple réflexe hygiénique permettant de nettoyer les naseaux. Par ailleurs, force est de constater que de nombreuses confusions existent dans la littérature dans l'utilisation des termes relatifs aux sons non-vocaux relevés lors des études. Le terme d'ébrouement est alors injustement employé par certains auteurs pour caractériser un ronflement ou un soufflement, et inversement (*e.g.* Dyson et al., 2018; Feist et McCullough, 1976; Hafez, 1962; Tyler, 1972). Or, ces deux autres productions vocales sont associées à des états émotionnels complètement différents puisqu'ils sont davantage émis lors de réactions intenses de peur face à un objet nouveau par exemple (Kiley, 1972; Waring, 2003). **Ainsi il est absolument nécessaire de clarifier le répertoire acoustique de cette espèce afin d'éviter toute mauvaise interprétation d'une réaction à une situation donnée. Le recours au casque EEG utilisé dans notre étude constituerait un moyen**

d'évaluation clair de la valence et de l'intensité de l'état interne des chevaux au moment de la production vocale et pourrait ainsi nous permettre d'appuyer les observations déjà réalisées.

A l'issue de ce travail, nous ne pouvons que préconiser de continuer les recherches sur l'identification des émotions positives en combinant des approches multiples et innovantes, comme l'EEG, essentielles si on veut embrasser toute la complexité de cette thématique.

Bibliographie

- Aftanas LI, Golocheikine SA (2001) Human anterior and frontal midline theta and lower alpha reflect emotionally positive state and internalized attention: high-resolution EEG investigation of meditation. *Neurosci Lett* 310:57–60. doi: 10.1016/S0304-3940(01)02094-8
- Aftanas LI, Koshkarov VI, Pokrovskaja VL, et al (1996) Pre- and post-stimulus processes in affective task and event-related desynchronization (ERD): Do they discriminate anxiety coping styles? *Int J Psychophysiol* 24:197–212. doi: 10.1016/S0167-8760(96)00060-8
- Aftanas LI, Reva N V., Savotina LN, Makhnev VP (2006) Neurophysiological Correlates of Induced Discrete Emotions in Humans: An Individually Oriented Analysis. *Neurosci Behav Physiol* 36:119–130. doi: 10.1007/s11055-005-0170-6
- Ahloy-Dallaire J, Espinosa J, Mason G (2017) Play and optimal welfare: Does play indicate the presence of positive affective states? *Behav Processes* 156:3–15. doi: 10.1016/J.BEPROC.2017.11.011
- Alberghina D, Caudullo E, Chan WY, et al (2016) Acoustic characteristics of courtship and agonistic vocalizations in Przewalskii's wild horse and in domestic horse. *Appl Anim Behav Sci* 174:70–75. doi: 10.1016/j.applanim.2015.10.003
- Ali ABA, El Sayed MA, Matoock MY, et al (2016) A welfare assessment scoring system for working equids—A method for identifying at risk populations and for monitoring progress of welfare enhancement strategies (trialed in Egypt). *Appl Anim Behav Sci* 176:52–62. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2015.12.001
- Altmann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 49:227–267
- Amsel A (1992) Frustration theory : an analysis of dispositional learning and memory. Cambridge University Press
- Anderson C, Yngvesson J, Boissy A, et al (2015) Behavioural expression of positive anticipation for

- food or opportunity to play in lambs. *Behav Processes* 113:152–158. doi:
10.1016/J.BEPROC.2015.02.003
- Anderson SL, Gantt WH (1966) The effect of person on cardiac and motor responsivity to shock in dogs. *Cond reflex a Pavlov J Res Ther* 1:181–189. doi: 10.1007/bf03001101
- Andrew R, Watkins J (2002) Evidence for cerebral lateralization from senses other than vision. In: Rogers L, Andrew R (eds) *Comparative Vertebrate Lateralization*. pp 365–382
- Anliker J, Mayer J (1956) An operant conditioning technique for studying feeding-fasting patterns in normal and obese mice. *J Appl Physiol* 8:667–670
- Antle MC, Silver R (2009) Neural basis of timing and anticipatory behaviors. *Eur J Neurosci* 30:1643–9. doi: 10.1111/j.1460-9568.2009.06959.x
- Asada H, Fukuda Y, Tsunoda S, et al (1999) Frontal midline theta rhythms reflect alternative activation of prefrontal cortex and anterior cingulate cortex in humans. *Neurosci Lett* 274:29–32. doi: 10.1016/S0304-3940(99)00679-5
- Ashley FH, Waterman-Pearson AE, Whay HR (2005) Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: application to clinical practice and future studies. *Equine Vet J* 37:565–575. doi: 10.2746/042516405775314826
- Aubé L, Fatnassi M, Monaco D, et al (2017) Daily rhythms of behavioral and hormonal patterns in male dromedary camels housed in boxes. *PeerJ* 5:e3074. doi: 10.7717/peerj.3074
- Aureli F, Preston SD, de Waal FBM (1999) Heart rate responses to social interactions in free-moving rhesus macaques (*Macaca mulatta*): A pilot study. *J Comp Psychol* 113:59–65
- Austin NP, Rogers LJ (2014) Lateralization of agonistic and vigilance responses in Przewalski horses (*Equus przewalskii*). *Appl Anim Behav Sci* 151:43–50. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2013.11.011
- Bachmann I, Audig L, Stauffacher M (2003) Risk factors associated with behavioural disorders of crib-biting, weaving and box-walking in Swiss horses. *Equine Vet J* 35:158–163. doi: 10.2746/042516403776114216

- Baciadonna L, Nawroth C, Briefer EF, Mcelligott AG (2018) Perceptual lateralisation of vocal stimuli in goats. doi: 10.1093/cz/zoy022/4939480
- Badia P, Culbertson S, Harsh J (1973) Choice of longer or stronger signalled shock over shorter or weaker unsignalled shock. *J Exp Anal Behav* 19:133-40. doi: 10.1901/jeab.1973.19-25
- Baldock NM, Sibly RM (1990) Effects of handling and transportation on the heart rate and behaviour of sheep. *Appl Anim Behav Sci* 28:15-39. doi: 10.1016/0168-1591(90)90044-E
- Balsam P, Sanchez-Castillo H, Taylor K, et al (2009) Timing and anticipation: conceptual and methodological approaches. *Eur J Neurosci* 30:1749-55. doi: 10.1111/j.1460-9568.2009.06967.x
- Başar E, Başar-Eroglu C, Karakaş S, Schürmann M (2001) Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes. *Int J Psychophysiol* 39:241-248. doi: 10.1016/S0167-8760(00)00145-8
- Bashaw MJ, Tarou LR, Maki TS, Maple TL (2001) A survey assessment of variables related to stereotypy in captive giraffe and okapi. *Appl Anim Behav Sci* 73:235-247. doi: 10.1016/S0168-1591(01)00137-X
- Basile M, Boivin S, Boutin A, et al (2009) Socially dependent auditory laterality in domestic horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 12:611-619. doi: 10.1007/s10071-009-0220-5
- Bastian A, Schmidt S (2008) Affect cues in vocalizations of the bat, *Megaderma*, during agonistic interactions. *J Acoust Soc Am* 124:598-608. doi: 10.1121/1.2924123
- Bateson P, Mendl M, Feaver J (1990) Play in the domestic cat is enhanced by rationing of the mother during lactation. *Anim Behav* 40:514-525
- Baxter E, Plowman A. (2001) The effect of increasing dietary fibre on feeding, rumination and oral stereotypies in captive giraffes (*Giraffa camelopardalis*). *Anim Welf* 10:281-290
- Beerda B, Schilder MB., Van Hooff J, et al (1999) Chronic Stress in Dogs Subjected to Social and Spatial Restriction. I. Behavioral Responses. *Physiol Behav* 66:233-242. doi: 10.1016/S0031-9384(98)00289-3

- Bekoff M (1974) Social play in coyotes, wolves, and dogs. *Bioscience* 24:225–230. doi: 10.2307/1296803
- Belin L, Formanek L, Heyraud C, et al (2018) Influence of early experience on processing 2D threatening pictures by European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Anim Cogn* 1–10. doi: 10.1007/s10071-018-1207-x
- Benhajali H, Ezzaouia M, Lunel C, et al (2014) Stereotypic behaviours and mating success in domestic mares. *Appl Anim Behav Sci* 153:36–42. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2014.01.002
- Benhajali H, Ezzaouia M, Lunel C, et al (2013) Temporal Feeding Pattern May Influence Reproduction Efficiency, the Example of Breeding Mares. *PLoS One* 8:e73858. doi: 10.1371/journal.pone.0073858
- Benhajali H, Richard-Yris M-A, Ezzaouia M, et al (2009) Foraging opportunity: a crucial criterion for horse welfare? *Animal* 3:1308–1312. doi: 10.1017/S1751731109004820
- Bergamasco L, Osella MC, Savarino P, et al (2010) Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: Human–animal interaction effects. *Appl Anim Behav Sci* 125:56–68. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2010.03.002
- Berridge KC (2003) Pleasures of the brain. *Brain Cogn* 52:106–128. doi: 10.1016/S0278-2626(03)00014-9
- Berridge KC (2007) The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology (Berl)* 191:391–431. doi: 10.1007/s00213-006-0578-x
- Blois-Heulin C, Rochais C, Camus S, et al (2015) Animal welfare: could adult play be a false friend? *Anim Behav Cogn* 156–185. doi: 10.12966/abc.05.04.2015
- Blokhuis HJ, Jones RB, Geers R, et al (2003) Measuring and monitoring animal welfare: transparency in the food product quality chain. *Anim Welf* 12:445–455
- Bloomsmith MA, Lambeth SP (1995) Effects of predictable versus unpredictable feeding schedules on chimpanzee behavior. *Appl Anim Behav Sci* 44:65–74. doi: 10.1016/0168-1591(95)00570-I

- Boissy A, Arnould C, Chaillou E, et al (2007a) Emotions et cognition: stratégie pour répondre à la question de la sensibilité des animaux. *INRA Prod Anim* 20:17–22
- Boissy A, Arnould C, Chaillou E, et al (2007b) Emotions and cognition: a new approach to animal welfare. *Anim Welf* 16:37–43
- Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, et al (2007c) Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol Behav* 92:375–397. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2007.02.003
- Boyd LE (1988) Time budgets of adult Przewalski horses: Effects of sex, reproductive status and enclosure. *Appl Anim Behav Sci* 21:19–39. doi: 10.1016/0168-1591(88)90099-8
- Boyd LE, Carbonaro DA, Houpt KA (1988) The 24-hour time budget of Przewalski horses. *Appl Anim Behav Sci* 21:5–17. doi: 10.1016/0168-1591(88)90098-6
- Böye M, Güntürkün O, Vauclair J (2005) Right ear advantage for conspecific calls in adults and subadults, but not infants, California sea lions (*Zalophus californianus*): hemispheric specialization for communication? *Eur J Neurosci* 21:1727–1732. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04005.x
- Bradshaw JWS, Casey R, Brown S (2012) *The Behaviour of the Domestic Cat*. CABI
- Breuer K, Hemsworth P., Barnett J., et al (2000) Behavioural response to humans and the productivity of commercial dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 66:273–288. doi: 10.1016/S0168-1591(99)00097-0
- Briefer E, Maignot A-L, Mandel R, et al (2015a) Segregation of information about emotional arousal and valence in horse whinnies. *Sci Rep* 4:9989. doi: 10.1038/srep09989
- Briefer E, Tettamanti F, McElligott AG (2015b) Emotions in goats: mapping physiological, behavioural and vocal profiles. *Anim Behav* 99:131–143. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2014.11.002
- Briefer EF (2012) Vocal expression of emotions in mammals: mechanisms of production and evidence. *J Zool* 288:1–20. doi: 10.1111/j.1469-7998.2012.00920.x

- Briefer Freymond S, Briefer EF, Zollinger A, et al (2014) Behaviour of horses in a judgment bias test associated with positive or negative reinforcement. *Appl Anim Behav Sci* 158:34–45. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2014.06.006
- Brilot BO, Bateson M (2012) Water bathing alters threat perception in starlings. *Biol Lett* 8:379–81. doi: 10.1098/rsbl.2011.1200
- Broom D (2010) Cognitive ability and awareness in domestic animals and decisions about obligations to animals. *Appl Anim Behav Sci* 126:1–11. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2010.05.001
- Broom D (1991) Animal welfare: concepts and measurement. *J Anim Sci* 69:4167–4175
- Broom DM (1986a) Responsiveness of stall-housed sows. *Appl Anim Behav Sci* 15:186. doi: 10.1016/0168-1591(86)90074-2
- Broom DM (1998) Welfare, stress, and the evolution of feelings. *Adv Study Behav* 27:371–403. doi: 10.1016/S0065-3454(08)60369-1
- Broom DM (1986b) Indicators of poor welfare. *Br Vet J* 142:524–526
- Brouns F, Edwards SA, English PR (1994) Effect of dietary fibre and feeding system on activity and oral behaviour of group housed gilts. *Appl Anim Behav Sci* 39:215–223. doi: 10.1016/0168-1591(94)90157-0
- Brydges NM, Leach M, Nicol K, et al (2011) Environmental enrichment induces optimistic cognitive bias in rats. *Anim Behav* 81:169–175. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2010.09.030
- Burgdorf J, Panksepp J (2006) The neurobiology of positive emotions. *Neurosci Biobehav Rev* 30:173–187. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2005.06.001
- Burgdorf J, Panksepp J, Moskal JR (2011) Frequency-modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations: a tool for uncovering the molecular substrates of positive affect. *Neurosci Biobehav Rev* 35:1831–1836. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2010.11.011
- Burman OHP, Parker R, Paul ES, Mendl M (2008) A spatial judgement task to determine background

- emotional state in laboratory rats, *Rattus norvegicus*. *Anim Behav* 76:801–809. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2008.02.014
- Buschman TJ, Miller EK (2007) Top-down versus bottom-up control of attention in the prefrontal and posterior parietal cortices. *Science* 315:1860–2. doi: 10.1126/science.1138071
- Cacioppo JT, Berntson GG, Larsen JT, et al (2000) The psychophysiology of emotion. In: Lewis M, Haviland-Jones J (eds) *Handbook of emotions*. New York: Guildford Press, pp 173–191
- Campbell R (1982) The Lateralisation of Emotion: A Critical Review. *Int J Psychol* 17:211–229. doi: 10.1080/00207598208247442
- Carlstead K (1986) Predictability of feeding: Its effect on agonistic behaviour and growth in grower pigs. *Appl Anim Behav Sci* 16:25–38. doi: 10.1016/0168-1591(86)90037-7
- Carpenter E (1980) *Animals and ethics: a report of the working party convened by Edward Carpenter*
- Carter CS, Krug MK (2012) *Cognitive neuroscience of attention*. Guilford Press
- Carvalho N, Laurent E, Noiret N, et al (2015) Eye movement in unipolar and bipolar depression: A systematic review of the literature. *Front Psychol* 6:1809. doi: 10.3389/fpsyg.2015.01809
- Carver CS (2001) Affect and the Functional Bases of Behavior: On the Dimensional Structure of Affective Experience. *Personal Soc Psychol Rev* 5:345–356. doi: 10.1207/S15327957PSPR0504_4
- Chaloupková H, Illmann G, Bartos L (2004) Does housing condition affect play behaviour of piglets during pre-weaning period? In: 38th International Congress of the International Society for Applied Ethology. Helsinki, p 136
- Christensen JW (2013) Object habituation in horses: The effect of voluntary versus negatively reinforced approach to frightening stimuli. *Equine Vet J* 45:298–301. doi: 10.1111/j.2042-3306.2012.00629.x
- Christensen JW, Ladewig J, Søndergaard E, Malmkvist J (2002) Effects of individual versus group

- stabling on social behaviour in domestic stallions. *Appl Anim Behav Sci* 75:233–248
- Christensen JW, Zharkikh TL, Antoine A, Malmkvist J (2011) Rein tension acceptance in young horses in a voluntary test situation. *Equine Vet J* 43:223–228. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00151.x
- Clayton HM, Larson B, Kaiser LJ, Lavagnino M (2011) Length and elasticity of side reins affect rein tension at trot. *Vet J* 188:291–294. doi: 10.1016/J.TVJL.2010.05.027
- Clegg ILK, Delfour F (2018) Cognitive judgement bias is associated with frequency of anticipatory behavior in bottlenose dolphins. *Zoo Biol*. doi: 10.1002/zoo.21400
- Clegg ILK, Rödel HG, Cellier M, et al (2017) Schedule of Human-Controlled Periods Structures Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Behavior in Their Free-Time. *J Comp Psychol*. doi: 10.1037/com0000059
- Cook WR (1999) Pathophysiology of bit control in the horse. *J Equine Vet Sci* 19:196–204. doi: 10.1016/S0737-0806(99)80067-7
- Cook WR (2003) Bit-induced pain: a cause of fear, flight, fight und facial neuralgia in the horse. *Pferdeheilkd Equine Med* 19:75–82. doi: 10.21836/PEM20030111
- Cooper J, McGreevy P (2007) Stereotypic behaviour in the stabled horse: causes, effects and prevention without compromising horse welfare. In: *The welfare of horses*, Springer., pp 99–124
- Cooper JJ, McCall N, Johnson S, Davidson HPB (2005) The short-term effects of increasing meal frequency on stereotypic behaviour of stabled horses. *Appl Anim Behav Sci* 90:351–364. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2004.08.005
- Corbetta M, Shulman GL (2002) Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 3:201–215. doi: 10.1038/nrn755
- Coulon M, Nowak R, Peyrat J, et al (2015) Do Lambs Perceive Regular Human Stroking as Pleasant? Behavior and Heart Rate Variability Analyses. *PLoS One* 10:e0118617. doi: 10.1371/journal.pone.0118617

- Cousillas H, Oger M, Rochais C, et al (2017) An Ambulatory Electroencephalography System for Freely Moving Horses: An Innovating Approach. *Front Vet Sci* 4:57. doi: 10.3389/fvets.2017.00057
- Crone N, Miglioretti DL, Gordon B, Lesser RP (1998) Functional mapping of human sensorimotor cortex with electrocorticographic spectral analysis. II. Event-related synchronization in the gamma band. *Brain* 121:2301–2315. doi: 10.1093/brain/121.12.2301
- Daan S (1981) Adaptive Daily Strategies in Behavior. In: *Biological Rhythms*. Springer US, Boston, MA, pp 275–298
- Dalla Costa E, Minero M, Lebelt D, et al (2014) Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration. *PLoS One* 9:e92281. doi: 10.1371/journal.pone.0092281
- Damasio A (2000) *The feeling of what happens*. Vintage: London, UK
- Dantzer R (1988) *Les émotions*, Paris: Pre
- Darwin C (1872) *The expression of the emotions in man and animals*, Philosophi. New York
- Davidson RJ (1995) Cerebral asymmetry, emotion, and affective style. In: Davidson R., Hugdahl K (eds) *Brain asymmetry*. Cambridge: MIT Press, pp 361–387
- Davidson RJ (1990) Approach-withdrawal and cerebral asymmetry: Emotional expression and brain physiology: I. *J Pers Soc Psychol* 58:330–341
- Dawkins M (2001) Who needs consciousness? *Anim Welf* 10:19–29
- Dawkins MS (1990) From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behav Brain Sci* 13:1–9. doi: 10.1017/S0140525X00077104
- Dawkins MS (1983) *La Souffrance Animale*, du Point V
- Dawkins MS (1998) Evolution and Animal Welfare. *Q Rev Biol* 73:305–328. doi: 10.1086/420307
- De Boyer Des Roches A, Richard-Yris M-A, Henry S, et al (2008) Laterality and emotions: Visual

- laterality in the domestic horse (*Equus caballus*) differs with objects' emotional value. *Physiol Behav* 94:487–490. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2008.03.002
- de Jong IC, Ekkel ED, van de Burgwal JA, et al (1998) Effects of strawbedding on physiological responses to stressors and behavior in growing pigs. *Physiol Behav* 64:303–310. doi: 10.1016/S0031-9384(98)00066-3
- de Mol RM, André G, Bleumer EJB, et al (2013) Applicability of day-to-day variation in behavior for the automated detection of lameness in dairy cows. *J Dairy Sci* 96:3703–3712. doi: 10.3168/JDS.2012-6305
- de Oliveira D, Keeling LJ (2018) Routine activities and emotion in the life of dairy cows: Integrating body language into an affective state framework. *PLoS One* 13:e0195674. doi: 10.1371/journal.pone.0195674
- de Rivera J, Possell L, Verette JA, Weiner B (1989) Distinguishing elation, gladness, and joy. *J Pers Soc Psychol* 57:1015–1023. doi: 10.1037/0022-3514.57.6.1015
- de Vere AJ, Kuczaj SA (2016) Where are we in the study of animal emotions? *Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci* 7:354–362. doi: 10.1002/wcs.1399
- Désiré L, Boissy A, Veissier I (2002) Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behav Processes* 60:165–180. doi: 10.1016/S0376-6357(02)00081-5
- Diamond DM, Park CR, Heman KL, Rose GM (1999) Exposing rats to a predator impairs spatial working memory in the radial arm water maze. *Hippocampus* 9:542–552. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:5<542::AID-HIPO8>3.0.CO;2-N
- Diener E, Chan MY (2011) Happy people live longer: Subjective well-being contributes to health and longevity. *Appl Psychol Heal Well-Being* 3:1–43. doi: 10.1111/j.1758-0854.2010.01045.x
- Douglas C, Bateson M, Walsh C, et al (2012) Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Appl Anim Behav Sci* 139:65–73. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2012.02.018
- Doyle RE, Fisher AD, Hinch GN, et al (2010) Release from restraint generates a positive judgement

- bias in sheep. *Appl Anim Behav Sci* 122:28–34. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.11.003
- DuBois C, Zakrajsek E, Haley DB, Merkies K (2015) Validation of triaxial accelerometers to measure the lying behaviour of adult domestic horses. *animal* 9:110–114. doi: 10.1017/S175173111400247X
- Dudink S, Simonse H, Marks I, et al (2006) Announcing the arrival of enrichment increases play behaviour and reduces weaning-stress-induced behaviours of piglets directly after weaning. *Appl Anim Behav Sci* 101:86–101. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2005.12.008
- Duffy E (1941) An explanation of “emotional” phenomena without the use of the concept “emotion.” *J Gen Psychol* 25:283–293. doi: 10.1080/00221309.1941.10544400
- Dunbar RIM (1991) Functional significance of social grooming in primates. *Folia Primatol* 57:121–131. doi: 10.1159/000156574
- Duncan IJ (1998) Behavior and behavioral needs. *Poult Sci* 77:1766–1772. doi: 10.1093/ps/77.12.1766
- Dyson S, Berger JM, Ellis AD, Mullard J (2018) Behavioral observations and comparisons of nonlame horses and lame horses before and after resolution of lameness by diagnostic analgesia. *J Vet Behav* 26:64–70. doi: 10.1016/j.jveb.2018.05.001
- Edwards L. (2009) *The human–animal relationship in the laying hen*. The University of Melbourne, Victoria, Australia.
- Ekman P (1984) Expression and the nature of emotion. In: Scherer KR, Ekman P (eds) *Approaches to emotion*. Erlbaum, Hillsdale, NJ, pp 329–343
- Ellsworth PC (1991) Some implications of cognitive appraisal theories of emotion. In: Strongman KT (Ed. . (ed) *International Review of Studies on Emotion*. Wiley, Chichester, pp 143–160
- Ellsworth PC, Smith CA (1988) *Shades of Joy: Patterns of Appraisal Differentiating Pleasant Emotions*. *Cogn Emot* 2:301–331. doi: 10.1080/02699938808412702

- Erdman L (1994) Laughter therapy for patients with cancer. *J Psychosoc Oncol* 11:55–67. doi: 10.1300/J077V11N04_04
- Ernst K, Tuchscherer M, Kanitz E, et al (2006) Effects of attention and rewarded activity on immune parameters and wound healing in pigs. *Physiol Behav* 89:448–456. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2006.07.001
- Fehr B, Russell JA (1984) Concept of emotion viewed from a prototype perspective. *J Exp Psychol Gen* 113:464–486. doi: 10.1037/0096-3445.113.3.464
- Fenner K, Yoon S, White P, et al (2016) The effect of noseband tightening on horses' behavior, eye temperature, and cardiac responses. *PLoS One* 11:e0154179. doi: 10.1371/journal.pone.0154179
- Fichtel C, Hammerschmidt K, Jürgens U (2001) On the vocal expression of emotion. A multi-parametric analysis of different states of aversion in the squirrel monkey. *Behaviour* 138:97–116. doi: 10.1163/15685390151067094
- Fiedler I, Küchenmeister U, Ender K, et al (2005) Reaction of muscles to stimulation environment — effects on the loin muscle (*M. longissimus*) of Landrace pigs. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 112:363–368
- Finlayson K, Lampe JF, Hintze S, et al (2016) Facial Indicators of Positive Emotions in Rats. *PLoS One* 11:e0166446. doi: 10.1371/journal.pone.0166446
- Finney G, Gordon A, Scoley G, Morrison SJ (2018) Validating the IceRobotics IceQube tri-axial accelerometer for measuring daily lying duration in dairy calves. *Livest Sci* 214:83–87. doi: 10.1016/J.LIVSCI.2018.05.014
- Fordham DP, Al-Gahtani S, Durotoye LA, Rodway RG (1991) Changes in plasma cortisol and β -endorphin concentrations and behaviour in sheep subjected to a change of environment. *Anim Prod* 52:287–296. doi: 10.1017/S0003356100012794
- Forgas JP (2000) *Feeling and thinking : the role of affect in social cognition*. Cambridge University Press

- Fraser D (1995) Science, Values and Animal Welfare: Exploring the “Inextricable Connection.” *Anim Welf* 4:103–117
- Fraser D, Duncan I (1998) “Pleasures”, “Pains” and animal welfare: Toward a natural history of affect. *Anim Welf* 7:383–396
- Fredrickson BL (1998) What good are positive emotions? *Rev Gen Psychol* 2:300–319. doi: 10.1037/1089-2680.2.3.300
- Frijda NH (1987) Emotion, cognitive structure, and action tendency. *Cogn Emot* 1:115–143. doi: 10.1080/02699938708408043
- Fureix C, Beaulieu C, Argaud S, et al (2015) Investigating anhedonia in a non-conventional species: do some riding horses *Equus caballus* display symptoms of depression? *Appl Anim Behav Sci* 162:26–36
- Fureix C, Bourjade M, Henry S, et al (2012a) Exploring aggression regulation in managed groups of horses *Equus caballus*. *Appl Anim Behav Sci* 138:216–228. doi: 10.1016/j.applanim.2012.02.009
- Fureix C, Gorecka-Bruzda A, Gautier E, Hausberger M (2011a) Cooccurrence of Yawning and Stereotypic Behaviour in Horses (*Equus caballus*). *ISRN Zool* 10. doi: 10.5402/2011/271209
- Fureix C, Hausberger M, Seneque E, et al (2011b) Geometric morphometrics as a tool for improving the comparative study of behavioural postures. *Naturwissenschaften* 98:583. doi: 10.1007/s00114-011-0803-2
- Fureix C, Jégo P, Coste C, Hausberger M (2010a) Indicateurs de bien-être/mal-être chez le cheval : une synthèse. 111–112
- Fureix C, Jégo P, Henry S, et al (2012b) Towards an Ethological Animal Model of Depression? A Study on Horses. *PLoS One* 7:e39280. doi: 10.1371/journal.pone.0039280
- Fureix C, Jégo P, Sankey C, Hausberger M (2009) How horses (*Equus caballus*) see the world: humans as significant “objects.” *Anim Cogn* 12:643–654. doi: 10.1007/s10071-009-0223-2

- Fureix C, Menguy H, Hausberger M (2010b) Partners with Bad Temper: Reject or Cure? A Study of Chronic Pain and Aggression in Horses. PLoS One 5:e12434. doi: 10.1371/journal.pone.0012434
- Gevins A, Smith ME, McEvoy L, Yu D (1997) High-resolution EEG mapping of cortical activation related to working memory: effects of task difficulty, type of processing, and practice. Cereb Cortex 7:374–385. doi: 10.1093/cercor/7.4.374
- Gilbert-Norton LB, Leaver LA, Shivik JA (2009) The effect of randomly altering the time and location of feeding on the behaviour of captive coyotes (*Canis latrans*). Appl Anim Behav Sci 120:179–185. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.06.007
- Gleerup KB, Lindegaard C (2016) Recognition and quantification of pain in horses: a tutorial review. Equine Vet Educ 28:47–57. doi: 10.1111/eve.12383
- Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina E V., et al (2010) Sign and strength of emotional arousal: vocal correlates of positive and negative attitudes to humans in silver foxes (*Vulpes vulpes*). Behaviour 147:1713–1736
- Goldberg E, Costa LD (1981) Hemisphere differences in the acquisition and use of descriptive systems. Brain Lang 14:144–173. doi: 10.1016/0093-934X(81)90072-9
- Good PI (2000) Permutation tests : a practical guide to resampling methods for testing hypotheses, Springer S
- Górecka-Bruzda A, Chruszczewski MH, Jaworski Z, et al (2011) Looking for an Ideal Horse: Rider Preferences. Anthrozoos 24:379–392. doi: 10.2752/175303711X13159027359827
- Górecka-Bruzda A, Jastrzębska E, Muszyńska A, et al (2013) To jump or not to jump? Strategies employed by leisure and sport horses. J Vet Behav Clin Appl Res 8:253–260. doi: 10.1016/J.JVEB.2012.10.003
- Górecka-Bruzda A, Kosińska I, Jaworski Z, et al (2015) Conflict behavior in elite show jumping and dressage horses. J Vet Behav Clin Appl Res 10:137–146. doi: 10.1016/J.JVEB.2014.10.004
- Grafen A (1990) Sexual selection unhandicapped by the fisher process. J Theor Biol 144:473–516.

doi: 10.1016/S0022-5193(05)80087-6

- Grandin T (1998) The feasibility of using vocalization scoring as an indicator of poor welfare during cattle slaughter. *Appl Anim Behav Sci* 56:121–128. doi: 10.1016/S0168-1591(97)00102-0
- Gray JA (1999) Cognition, emotion, conscious experience and the brain. In: Dalgleish T, Power MJ (eds) *Handbook of Cognition and Emotion*. Wiley, Chichester, pp 83–102
- Greiveldinger L, Veissier I, Boissy A (2007) Emotional experience in sheep: Predictability of a sudden event lowers subsequent emotional responses. *Physiol Behav* 92:675–683. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2007.05.012
- Gros-Louis JJ, Perry SE, Fichtel C, et al (2008) Vocal Repertoire of *Cebus capucinus*: Acoustic Structure, Context, and Usage. *Int J Primatol* 29:641–670. doi: 10.1007/s10764-008-9263-8
- Hafez ESE (1962) *The behaviour of domestic animals*. London: Balliere, Tindall & Cox Ltd
- Hall C, Burton K, Maycock E, Wragg E (2011) A preliminary study into the use of infrared thermography as a means of assessing the horse's response to different training methods. *J Vet Behav Clin Appl Res* 6:291–292. doi: 10.1016/j.jveb.2011.05.005
- Hall C, Heleski C (2017) The role of the ethogram in equitation science. *Appl Anim Behav Sci* 190:102–110. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2017.02.013
- Hall C, Kay R, Yarnell K (2014) Assessing ridden horse behavior: Professional judgment and physiological measures. *J Vet Behav Clin Appl Res* 9:22–29. doi: 10.1016/J.JVEB.2013.09.005
- Hall C, Randle H, Pearson G, et al (2018) Assessing equine emotional state. *Appl Anim Behav Sci* 205:183–193. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2018.03.006
- Hansen SW, Jeppesen LL (2006) Temperament, stereotypies and anticipatory behaviour as measures of welfare in mink. *Appl Anim Behav Sci* 99:172–182. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2005.10.005
- Harding EJ, Paul ES, Mendl M (2004) Animal behavior—cognitive bias and affective state. *Nature* 427:312

- Haubenhofer DK, Kirchengast S (2006) Physiological arousal for companion dogs working with their owners in animal-assisted activities and animal-assisted therapy. *J Appl Anim Welf Sci* 9:165–172. doi: 10.1207/s15327604jaws0902_5
- Hausberger M, Fureix C, Bourjade M, et al (2012) On the significance of adult play: what does social play tell us about adult horse welfare? doi: 10.1007/s00114-012-0902-8
- Hausberger M, Fureix C, Lesimple C (2016) Detecting horses' sickness: in search of visible signs. *Appl Anim Behav Sci* 175:41–49. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2015.09.005
- Hausberger M, Gautier E, Biquand V, et al (2009) Could work be a source of behavioural disorders? A Study in horses. *PLoS One* 4:e7625. doi: 10.1371/journal.pone.0007625
- Hausberger M, Gautier E, Müller C, Jego P (2007) Lower learning abilities in stereotypic horses. *Appl Anim Behav Sci* 107:299–306. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.10.003
- Hausberger M, Muller C (2002) A brief note on some possible factors involved in the reactions of horses to humans. *Appl Anim Behav Sci* 76:339–344. doi: 10.1016/S0168-1591(02)00016-3
- Hausberger M, Roche H, Henry S, Visser EK (2008) A review of the human–horse relationship. *Appl Anim Behav Sci* 109:1–24. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.04.015
- Haverbeke A, Laporte B, Depiereux E, et al (2008) Training methods of military dog handlers and their effects on the team's performances. *Appl Anim Behav Sci* 113:110–122. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.11.010
- Heilman K. (1997) The neurobiology of emotional experience. In: Salloway S, Malloy P, Cummings JL (eds) *The neuropsychiatry of limbic and subcortical disorders*. American psychiatric Pub, p 217
- Hemsworth PH, Coleman GJ (1998) *Human-Livestock Interactions : the Stockperson and the Productivity and Welfare of Intensively Farmed Animals*. CABI
- Hennessy MB, T. Williams M, Miller DD, et al (1998) Influence of male and female petters on plasma cortisol and behaviour: can human interaction reduce the stress of dogs in a public animal

- shelter? *Appl Anim Behav Sci* 61:63–77. doi: 10.1016/S0168-1591(98)00179-8
- Henry S, Fureix C, Rowberry R, et al (2017) Do horses with poor welfare show “pessimistic” cognitive biases? *Sci Nat* 104:8. doi: 10.1007/s00114-016-1429-1
- Henry S, Hemery D, Richard M-A, Hausberger M (2005) Human–mare relationships and behaviour of foals toward humans. *Appl Anim Behav Sci* 93:341–362. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2005.01.008
- Henry S, Richard-Yris M-A, Hausberger M (2006) Influence of various early human–foal interferences on subsequent human–foal relationship. *Dev Psychobiol* 48:712–718. doi: 10.1002/dev.20189
- Hiby E, Rooney N, Bradshaw J (2004) Dog training methods: their use, effectiveness and interaction with behaviour and welfare. *Anim Welf* 13:63–69
- Hopster H, Bruckmaier RM, Van der Werf JTN, et al (2002) Stress Responses during Milking; Comparing Conventional and Automatic Milking in Primiparous Dairy Cows. *J Dairy Sci* 85:3206–3216. doi: 10.3168/JDS.S0022-0302(02)74409-3
- Horrell I, Ness PA (1995) Enrichment satisfying specific behavioural needs in early-weaned pigs. *Appl Anim Behav Sci* 44:264. doi: 10.1016/0168-1591(95)92349-X
- Hughes BO (1976) Behaviour as index of welfare. In: 5th European Poultry Conference. Malta, pp 1005–1018
- Hutson GD (1985) The influence of barley food rewards on sheep movement through a handling system. *Appl Anim Behav Sci* 14:263–273. doi: 10.1016/0168-1591(85)90007-3
- Ille N, von Lewinski M, Erber R, et al (2013) Effects of the level of experience of horses and their riders on cortisol release, heart rate and heart-rate variability during a jumping course. *Anim Welf* 22:457–465. doi: 10.7120/09627286.22.4.457
- Imfeld-Mueller S, Van Wezemael L, Stauffacher M, et al (2011) Do pigs distinguish between situations of different emotional valences during anticipation? *Appl Anim Behav Sci* 131:86–93.

doi: 10.1016/J.APPLANIM.2011.02.009

Izard C (2007) Levels of emotion and levels of consciousness. *Behav Brain Sci* 30:96–98. doi: 10.1017/S0140525X07001045

Jensen A-LM, Delfour F, Carter T (2013) Anticipatory behavior in captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): A preliminary study. *Zoo Biol* 32:436–444. doi: 10.1002/zoo.21077

Jensen O, Tesche CD (2002) Frontal theta activity in humans increases with memory load in a working memory task. *Eur J Neurosci* 15:1395–1399. doi: 10.1046/j.1460-9568.2002.01975.x

Johannesson T, Ladewig J (2000) The effect of irregular feeding times on the behaviour and growth of dairy calves. *Appl Anim Behav Sci* 69:103–111. doi: 10.1016/S0168-1591(00)00127-1

Jones MW, Wilson MA (2005) Theta Rhythms Coordinate Hippocampal–Prefrontal Interactions in a Spatial Memory Task. *PLoS Biol* 3:e402. doi: 10.1371/journal.pbio.0030402

Joormann J, Talbot L, Gotlib IH (2007) Biased processing of emotional information in girls at risk for depression. *J Abnorm Psychol* 116:135–143. doi: 10.1037/0021-843X.116.1.135

Jürgens U (2009) The neural control of vocalization in mammals: A review. *J Voice* 23:1–10. doi: 10.1016/J.JVOICE.2007.07.005

Jürgens U (1979) Vocalization as an emotional indicator. A neuroethological study in the squirrel monkey. *Behaviour* 69:88–117

Kalan AK, Boesch C (2015) Audience effects in chimpanzee food calls and their potential for recruiting others. *Behav Ecol Sociobiol* 69:1701–1712. doi: 10.1007/s00265-015-1982-1

Kawai N, Kubo K, Masataka N, Hayakawa S (2016) Conserved evolutionary history for quick detection of threatening faces. *Anim Cogn* 19:655–660. doi: 10.1007/s10071-015-0949-y

Keating SCJ, Thomas AA, Flecknell PA, Leach MC (2012) Evaluation of EMLA Cream for preventing pain during tattooing of rabbits: Changes in physiological, behavioural and facial expression responses. *PLoS One* 7:e44437. doi: 10.1371/journal.pone.0044437

- Kiley-Worthington M (1984) Animal language? Vocal communication of some ungulates, canids and felids. *Acta Zool Fenn* 171:8
- Kiley M (1972) The vocalizations of ungulates, their causation and function. *Z Tierpsychol* 31:171–222. doi: 10.1111/j.1439-0310.1972.tb01764.x
- Kindt M, Van Den Hout M (2001) Selective Attention and Anxiety: A Perspective on Developmental Issues and the Causal Status. *J Psychopathol Behav Assess* 23:193–202. doi: 10.1023/A:1010921405496
- Klimesch W (1999) EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Rev* 29:169–195. doi: 10.1016/S0165-0173(98)00056-3
- Knutson B, Burgdorf J, Panksepp J (1998) Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *J Comp Psychol* 112:65–73
- Knutson B, Burgdorf J, Panksepp J (2002) Ultrasonic vocalisations as indices of affective states in rats. *Psychol Bull* 128:961–977
- Ko K-E, Yang H-C, Sim K-B (2009) Emotion recognition using EEG signals with relative power values and Bayesian network. *Int J Control Autom Syst* 7:865–870. doi: 10.1007/s12555-009-0521-0
- Kokin E, Praks J, Veermäe I, et al (2014) IceTag3D™ accelerometric device in cattle lameness detection. *Agron Res* 12:223–230
- König Borstel U, Visser E, Hall C (2017) Indicators of stress in equitation. *Appl Anim Behav Sci* 190:43–56. doi: 10.1016/j.applanim.2017.02.018
- König von Borstel U, Glibman C (2014) Alternatives to Conventional Evaluation of Rideability in Horse Performance Tests: Suitability of Rein Tension and Behavioural Parameters. *PLoS One* 9:e87285. doi: 10.1371/journal.pone.0087285
- König von Borstel U, Keil J (2012) Horses' behavior and heart rate in a preference test for shorter and longer riding bouts. *J Vet Behav Clin Appl Res* 7:362–374. doi: 10.1016/J.JVEB.2012.02.006

- Korte SM, Olivier B, Koolhaas JM (2007) A new animal welfare concept based on allostasis. *Physiol Behav* 92:422–428. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2006.10.018
- Krebs BL, Torres E, Chesney C, et al (2017) Applying Behavioral Conditioning to Identify Anticipatory Behaviors. *J Appl Anim Welf Sci* 20:155–175. doi: 10.1080/10888705.2017.1283225
- Lane RD, Nadel L, Allen JJB, Kaszniak A. (2000) The study of emotion from the perspective of cognitive neuroscience. In: Lane RD, Nadel L (eds) *Cognitive Neuroscience of Emotion*. OUP, Oxford, pp 3–11
- Lang P (1969) The mechanics of desensitization and the laboratory study of human fear. In: *Assessment and status of the behavior therapies*. New York: McGraw Hill Press, pp 160–191
- Langbein J, Nürnberg G, Manteuffel G (2004) Visual discrimination learning in dwarf goats and associated changes in heart rate and heart rate variability. *Physiol Behav* 82:601–609. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2004.05.007
- Lansade L, Nowak R, Lainé A-L, et al (2018) Facial expression and oxytocin as possible markers of positive emotions in horses. *Sci Rep* 8:14680. doi: 10.1038/s41598-018-32993-z
- Larose C, Richard-Yris M-A, Hausberger M, Rogers L (2006) Laterality of horses associated with emotionality in novel situations. *Laterality Asymmetries Body, Brain, Cogn* 11:355–367. doi: 10.1080/13576500600624221
- Lazarus RS (1991a) Progress on a cognitive-motivational-relational theory of emotion. *Am Psychol* 46:819–834
- Lazarus RS (1991b) *Emotion and adaptation*. Oxford University Press
- LeDoux J, Bemporad JR (1997) The emotional brain. *J Am Acad Psychoanal* 25:525–528
- Lee C, Verbeek E, Doyle R, Bateson M (2016) Attention bias to threat indicates anxiety differences in sheep. *Biol Lett* 12:20150977. doi: 10.1098/rsbl.2015.0977

- Lee J, Floyd T, Erb H, Houpt K (2011) Preference and demand for exercise in stabled horses. *Appl Anim Behav Sci* 130:91–100. doi: 10.1016/j.applanim.2011.01.001
- Lee MS, Rim YH, Jeong D-M, et al (2005) Nonlinear Analysis of Heart Rate Variability During Qi Therapy (External Qigong). *Am J Chin Med* 33:579–588. doi: 10.1142/S0192415X05003181
- Leliveld LMC, Düpjan S, Tuchscherer A, Puppe B (2016) Behavioural and physiological measures indicate subtle variations in the emotional valence of young pigs. *Physiol Behav* 157:116–124. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2016.02.002
- Lemasson A, Remeuf K, Hausberger M (2015) Tenseness relaxed by vocalizing, illustrated by horses (*Equus caballus*) whinnying. *J Comp Psychol* 129:311–315. doi: 10.1037/a0039032
- Lemasson A, Remeuf K, Rossard A, Zimmermann E (2012) Cross-taxa similarities in affect-induced changes of vocal behavior and voice in arboreal monkeys. *PLoS One* 7:e45106. doi: 10.1371/journal.pone.0045106
- Lensink BJ, Leruste H, De Bretagne T, Bizeray-Filoché D (2009) Sow behaviour towards humans during standard management procedures and their relationship to piglet survival. *Appl Anim Behav Sci* 119:151–157. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.04.007
- Lesimple C, Fureix C, Aubé L, Hausberger M (2016a) Detecting and measuring back disorders in nonverbal individuals: the example of domestic horses. *Anim Behav Cogn* 3:159–179. doi: 10.12966/abc.05.08.2016
- Lesimple C, Fureix C, De Margerie E, Sénèque E, Menguy H, Hausberger M (2012a) Towards a Postural Indicator of Back Pain in Horses (*Equus caballus*). *PloS one*, 7(9), e44604
- Lesimple C, Fureix C, LeScolan N, et al (2011) Housing conditions and breed are associated with emotionality and cognitive abilities in riding school horses. *Appl Anim Behav Sci* 129:92–99. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2010.11.005
- Lesimple C, Fureix C, Menguy H, Hausberger M (2010) Human direct actions may alter animal welfare, a study on horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 5:e10257. doi:

10.1371/journal.pone.0010257

Lesimple C, Hausberger M (2014) How accurate are we at assessing others' well-being? The example of welfare assessment in horses. *Front Psychol* 5:21. doi: 10.3389/fpsyg.2014.00021

Lesimple C, Poissonnet A, Hausberger M (2016b) How to keep your horse safe? An epidemiological study about management practices. *Appl Anim Behav Sci* 181:105–114. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2016.04.015

Lesimple C, Sankey C, Richard MA, Hausberger M (2012b) Do Horses Expect Humans to Solve Their Problems? *Front Psychol* 3:306. doi: 10.3389/fpsyg.2012.00306

Libera C Della, Chelazzi L (2006) Visual Selective Attention and the Effects of Monetary Rewards. *Psychol Sci* 17:222–227. doi: 10.1111/j.1467-9280.2006.01689.x

Lima A, Lemasson A, Boye M, Hausberger M (2017) Vocal activities reflect the temporal distribution of bottlenose dolphin social and non-social activity in a zoological park. *Zoo Biol* 36:351–359. doi: 10.1002/zoo.21387

Linn SN, Boer M, Scheumann M (2018) First insights into the vocal repertoire of infant and juvenile Southern white rhinoceros. *PLoS One* 13:e0192166. doi: 10.1371/journal.pone.0192166

Löckener S, Reese S, Erhard M, Wöhr A-C (2016) Pasturing in herds after housing in horseboxes induces a positive cognitive bias in horses. *J Vet Behav Clin Appl Res* 11:50–55. doi: 10.1016/J.JVEB.2015.11.005

Lovett T, Hodson-Tole E, Nankervis K (2005) A preliminary investigation of rider position during walk, trot and canter. *Equine Comp Exerc Physiol* 2:71–76. doi: 10.1079/ECP200444

Ludewig AK, Gauly M, König von Borstel U (2013) Effect of shortened reins on rein tension, stress and discomfort behavior in dressage horses. *J Vet Behav Clin Appl Res* 8:e15–e16. doi: 10.1016/j.jveb.2012.12.035

Luu P, Tucker DM, Makeig S (2004) Frontal midline theta and the error-related negativity: neurophysiological mechanisms of action regulation. *Clin Neurophysiol* 115:1821–1835. doi:

10.1016/J.CLINPH.2004.03.031

- Maigrot A-L, Hillmann E, Anne C, Briefer EF (2017) Vocal expression of emotional valence in Przewalski's horses (*Equus przewalskii*). *Sci Rep* 7:8779. doi: 10.1038/s41598-017-09437-1
- Malavasi R, Huber L (2016) Evidence of heterospecific referential communication from domestic horses (*Equus caballus*) to humans. *Anim Cogn* 19:899–909. doi: 10.1007/s10071-016-0987-0
- Manteuffel G, Puppe B, Schön PC (2004a) Vocalization of farm animals as a measure of welfare. *Appl Anim Behav Sci* 88:163–182. doi: 10.1016/j.applanim.2004.02.012
- Manteuffel G, Puppe B, Schön PC (2004b) Vocalization of farm animals as a measure of welfare. *Appl Anim Behav Sci* 88:163–182. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2004.02.012
- Marcet Rius M, Pageat P, Bienboire-Frosini C, et al (2018) Tail and ear movements as possible indicators of emotions in pigs. *Appl Anim Behav Sci* 205:14–18. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2018.05.012
- Marler P, Dufty A, Pickert R (1986) Vocal communication in the domestic chicken: II. Is a sender sensitive to the presence and nature of a receiver? *Anim Behav* 34:194–198. doi: 10.1016/0003-3472(86)90023-0
- Marshall-Pescini S, Colombo E, Passalacqua C, et al (2013) Gaze alternation in dogs and toddlers in an unsolvable task: evidence of an audience effect. *Anim Cogn* 16:933–943. doi: 10.1007/s10071-013-0627-x
- Martin RA (2002) Is laughter the best medicine? Humor, laughter, and physical health. *Curr Dir Psychol Sci* 11:216–220. doi: 10.1111/1467-8721.00204
- Mason G, Clubb R, Latham N, Vickery S (2007) Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Appl Anim Behav Sci* 102:163–188. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.05.041
- Mason G, Rushen J (2006) Stereotypic animal behaviour : fundamentals and applications to welfare. CABI Pub

- Mason GJ (1991) Stereotypies: a critical review. *Anim Behav* 41:1015–1037. doi: 10.1016/S0003-3472(05)80640-2
- Mata F, Johnson C, Bishop C (2015) A Cross-Sectional Epidemiological Study of Prevalence and Severity of Bit-Induced Oral Trauma in Polo Ponies and Race Horses. *J Appl Anim Welf Sci* 18:259–268. doi: 10.1080/10888705.2015.1004407
- Mathews A, MacLeod C (1985) Selective processing of threat cues in anxiety states. *Behav Res Ther* 23:563–569
- Mauss IB, Robinson MD (2009) Measures of emotion: A review. *Cogn Emot* 23:209–237. doi: 10.1080/02699930802204677
- McDonnell SM, Poulin A (2002) Equid play ethogram. *Appl Anim Behav Sci* 78:263–290. doi: 10.1016/S0168-1591(02)00112-0
- McGowan RTS, Rehn T, Norling Y, Keeling LJ (2014) Positive affect and learning: exploring the “Eureka Effect” in dogs. *Anim Cogn* 17:577–587. doi: 10.1007/s10071-013-0688-x
- McGreevy P, McLean A (2005) The behavioural problems with the ridden horse. In: Press C university (ed) *The domestic horse: The origins, development, and management of its behaviour*. pp 196–211
- McGreevy P, Warren-Smith A, Guisard Y (2012) The effect of double bridles and jaw-clamping crank nosebands on temperature of eyes and facial skin of horses. *J Vet Behav* 7:142–148. doi: 10.1016/J.JVEB.2011.08.001
- McGreevy PD (2007) The advent of equitation science. *Vet J* 174:492–500
- McGreevy PD, Cripps PJ, French NP, et al (1995) Management factors associated with stereotypic and redirected behaviour in the Thoroughbred horse. *Equine Vet J* 27:86–91. doi: 10.1111/j.2042-3306.1995.tb03041.x
- McGreevy PD, McLean A. (2010) *Equitation science*. Wiley-Blackwell Oxford,UK

- McGreevy PD, Nicol CJ (1998) The effect of short term prevention on the subsequent rate of cribbiting in Thoroughbred horses. *Equine Vet J* 30:30–34. doi: 10.1111/J.2042-3306.1998.TB05142.X
- McLean AN, McGreevy PD (2010) Horse-training techniques that may defy the principles of learning theory and compromise welfare. *J Vet Behav Clin Appl Res* 5:187–195. doi: 10.1016/j.jveb.2010.04.002
- Mejdell CM, Buvik T, Jørgensen GHM, Bøe KE (2016) Horses can learn to use symbols to communicate their preferences. *Appl Anim Behav Sci* 184:66–73. doi: 10.1016/j.applanim.2016.07.014
- Mendl M (1999) Performing under pressure: stress and cognitive function. *Appl Anim Behav Sci* 65:221–244. doi: 10.1016/S0168-1591(99)00088-X
- Mendl M, Burman OHP, Parker RMA, Paul ES (2009) Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. *Appl Anim Behav Sci* 118:161–181. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.02.023
- Mendl M, Burman OHP, Paul ES (2010) An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. *Proceedings Biol Sci* 277:2895–904. doi: 10.1098/rspb.2010.0303
- Mendl M, Paul E (2004) Consciousness, emotion and animal welfare: insights from cognitive science. *Anim Welf* 13:17–25
- Merkies K, Carson J (2011) Discrimination of Water Acidity by Mature Horses. *J Equine Vet Sci* 31:269. doi: 10.1016/j.jevs.2011.03.078
- Merkies K, DuBois C, Marshall K, et al (2016) A two-stage method to approach weaning stress in horses using a physical barrier to prevent nursing. *Appl Anim Behav Sci* 183:68–76. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2016.07.004
- Mills DS (2005) Repetitive movement problems in the horse. In: Cambridge university press (ed) *The domestic horse: The origins, development, and management of its behaviour*. pp 212–227

- Mineka S, Hendersen RW (1985) Controllability and Predictability in Acquired Motivation. *Annu Rev Psychol* 36:495–529. doi: 10.1146/annurev.ps.36.020185.002431
- Mistlberger RE (2011) Neurobiology of food anticipatory circadian rhythms. *Physiol Behav* 104:535–545. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2011.04.015
- Mistlberger RE (1994) Circadian food-anticipatory activity: Formal models and physiological mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev* 18:171–195. doi: 10.1016/0149-7634(94)90023-X
- Mistlberger RE, de Groot MHM, Bossert JM, Marchant EG (1996) Discrimination of circadian phase in intact and suprachiasmatic nuclei-ablated rats. *Brain Res* 739:12–18. doi: 10.1016/S0006-8993(96)00466-0
- Moe RO, Bakken M, Kittilsen S, et al (2006) A note on reward-related behaviour and emotional expressions in farmed silver foxes (*Vulpes vulpes*)—Basis for a novel tool to study animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 101:362–368. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.02.004
- Moe RO, Stubsjøen SM, Bohlin J, et al (2012) Peripheral temperature drop in response to anticipation and consumption of a signaled palatable reward in laying hens (*Gallus domesticus*). *Physiol Behav* 106:527–533. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2012.03.032
- Montenegro OL (1998) The behavior of Lowland Tapir (*Tapirus Terrestris*) at a natural mineral lick in the peruvian amazon. University of Florida
- Mormède P, Andanson S, Aupérin B, et al (2007) Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92:317–339. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2006.12.003
- Morton ES (1977) On the occurrence and significance of motivation-structural rules in some bird and mammal sounds. *Am Nat* 111:855–869. doi: 10.1086/283219
- Mullard J, Berger JM, Ellis AD, Dyson S (2017) Development of an ethogram to describe facial expressions in ridden horses (FEReq). *J Vet Behav Clin Appl Res* 18:7–12. doi: 10.1016/j.jveb.2016.11.005

- Murphy J (2008) The use of training aids (gadgets) within equitation: Meritorious or detrimental? In: 4th International Conference of International Society for Equitation Sciences, 1st-4th August 2008. p 29
- Murphy J (2009) Assessing equine prospective memory in a Y-maze apparatus. *Vet J* 181:24–28. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.03.028
- Näätänen R (1992) Attention and brain
- Nasir U, Iwanaga S, Nabi A, et al (2005) Laughter therapy modulates the parameters of renin-angiotensin system in patients with type 2 diabetes. *Int J Mol Med* 16:1077–1081. doi: 10.3892/ijmm.16.6.1077
- Nesse RM (1990) Evolutionary explanations of emotions. *Hum Nat* 1:261–289. doi: 10.1007/BF02733986
- Nicol C (1999) Understanding equine stereotypies. *Equine Vet J* 31:20–25. doi: 10.1111/j.2042-3306.1999.tb05151.x
- Nicol CJ (2005) Learning abilities in the horse. In: *The domestic horse*. pp 169–183
- Nicol CJ, Davidson H, Harris PA, et al (2002) Study of crib-biting and gastric inflammation and ulceration in young horses. *Vet Rec* 151:658
- Nie D, Wang X-W, Shi L-C, Lu B-L (2011) EEG-based emotion recognition during watching movies. In: 2011 5th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering. IEEE, pp 667–670
- Ninomiya S, Kusunose R, Sato S, et al (2004) Effects of feeding methods on eating frustration in stabled horses. *Anim Sci J* 75:465–469. doi: 10.1111/j.1740-0929.2004.00214.x
- Ninomiya S, Sato S, Kusunose R, et al (2007) A note on a behavioural indicator of satisfaction in stabled horses. *Appl Anim Behav Sci* 106:184–189. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.06.011
- Normando S, Haverbeke A, Meers L, et al (2003) Effect of Manual Imitation of Grooming on Riding Horses' Heart Rate in Different Environmental Situations. *Vet Res Commun* 27:615–617. doi:

10.1023/B:VERC.0000014230.52006.df

- Ödberg FO (1973) An interpretation of pawing by the horse (*Equus caballus Linnaeus*), displacement activity and original functions. *Säuget Mitt* 21:1–12
- Ödberg FO (1978) Abnormal behaviours: stereotypies. In: First World Congress on Ethology Applied to Zootechnics, October 23–27, Madrid, Industrias Graficas Espana. pp 475–480
- Ödberg FO, Bouissou M-F (1999) The development of equestrianism from the baroque period to the present day and its consequences for the welfare of horses. *Equine Vet J* 31:26–30. doi: 10.1111/j.2042-3306.1999.tb05152.x
- Onton J, Delorme A, Makeig S (2005) Frontal midline EEG dynamics during working memory. *Neuroimage* 27:341–356. doi: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2005.04.014
- Palagi E, Mancini G (2011) Playing with the face: Playful facial “chattering” and signal modulation in a monkey species (*Theropithecus gelada*). *J Comp Psychol* 125:11–21
- Panksepp J (2007a) Neurologizing the psychology of affects: How appraisal-based constructivism and basic emotion theory can coexist. *Perspect Psychol Sci* 2:281–296. doi: 10.1111/j.1745-6916.2007.00045.x
- Panksepp J (2003) At the interface of the affective, behavioral, and cognitive neurosciences: Decoding the emotional feelings of the brain. *Brain Cogn* 52:4–14. doi: 10.1016/S0278-2626(03)00003-4
- Panksepp J (2007b) Neurologizing the Psychology of Affects: How Appraisal-Based Constructivism and Basic Emotion Theory Can Coexist. *Perspect Psychol Sci* 2:281–296. doi: 10.1111/j.1745-6916.2007.00045.x
- Panksepp J, Burgdorf J (2003) “Laughing” rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiol Behav* 79:533–547. doi: 10.1016/S0031-9384(03)00159-8
- Papoušek H, Jürgens U, Papoušek. Mechthild. (1992) Nonverbal vocal communication : comparative and developmental approaches. Cambridge University Press

- Parker M, Redhead ES, Goodwin D, McBride SD (2008) Impaired instrumental choice in crib-biting horses (*Equus caballus*). Behav Brain Res 191:137–140. doi: 10.1016/J.BBR.2008.03.009
- Paul ES, Harding EJ, Mendl M (2005) Measuring emotional processes in animals: the utility of a cognitive approach. Neurosci Biobehav Rev 29:469–491. doi: 10.1016/J.NEUBIOREV.2005.01.002
- Pavlov IP (1904) The physiology of digestion. Nobel lecture (Physiology ore Medecine), Elsevier. Amsterdam
- Pavlov IP (1927) Conditional reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex
- Pawluski J, Jegou P, Henry S, et al (2017) Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). PLoS One 12:e0182257. doi: 10.1371/journal.pone.0182257
- Peters G (2002) Purring and similar vocalizations in mammals. Mamm Rev 32:245–271. doi: 10.1046/j.1365-2907.2002.00113.x
- Peters SM, Bleijenberg EH, van Dierendonck MC, et al (2012) Characterization of anticipatory behaviour in domesticated horses (*Equus caballus*). Appl Anim Behav Sci 138:60–69. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2012.01.018
- Petersen MR, Beecher MD, Zoloth SR, et al (1978) Neural lateralization of species-specific vocalizations by Japanese macaques (*Macaca fuscata*). Science 202:324–7. doi: 10.1126/SCIENCE.99817
- Pfungst O (1911) Clever Hans. The horse of Mr. von Osten: A Contribution to Experimental Animal and Human Psychology, Henry Holt. New York
- Phelps EA, Ling S, Carrasco M (2006) Emotion facilitates perception and potentiates the perceptual benefits of attention. Psychol Sci 17:292–299. doi: 10.1111/j.1467-9280.2006.01701.x
- Plutchik R (1980) Emotion: A Psychoevolutionary Synthesis. Harper and Row, New York

- Policht R, Tomasova K, Holeckova D, Frynta D (2008) The vocal repertoire in Northern white rhinoceros *ceratotherium simum cottoni* as recorded in the last surviving herd. *Bioacoustics* 18:69–96. doi: 10.1080/09524622.2008.9753591
- Pond RL, Darre MJ, Scheifele PM, Browning DG (2010) Characterization of equine vocalization. *J Vet Behav Clin Appl Res* 5:7–12. doi: 10.1016/J.JVEB.2009.08.002
- Poremba A, Malloy M, Saunders RC, et al (2004) Species-specific calls evoke asymmetric activity in the monkey's temporal poles. *Nature* 427:448–451. doi: 10.1038/nature02268
- Posner MI (1980) Orienting of attention. *Q J Exp Psychol* 32:3–25. doi: 10.1080/00335558008248231
- Proctor HS, Carder G (2015) Nasal temperatures in dairy cows are influenced by positive emotional state. *Physiol Behav* 138:340–344. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2014.11.011
- Proctor HS, Carder G (2014) Can ear postures reliably measure the positive emotional state of cows? *Appl Anim Behav Sci* 161:20–27. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2014.09.015
- Proops L, McComb K (2010) Attributing attention: the use of human-given cues by domestic horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 13:197–205. doi: 10.1007/s10071-009-0257-5
- Putman P, van Peer J, Maimari I, van der Werff S (2010) EEG theta/beta ratio in relation to fear-modulated response-inhibition, attentional control, and affective traits. *Biol Psychol* 83:73–78. doi: 10.1016/J.BIOPSYCHO.2009.10.008
- Ramonet Y, Meunier-Salaün MC, Dourmad JY (1999) High-fiber diets in pregnant sows: digestive utilization and effects on the behavior of the animals. *J Anim Sci* 77:591–599
- Range F, Huber L (2007) Attention in common marmosets: implications for social-learning experiments. *Anim Behav* 73:1033–1041. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2006.07.015
- Raoult C, Gygax L (2018) Valence and intensity of video and conspecifics in sheep: approach-avoidance, operant response, and attention. *Animals* 8:121
- Raymond J (2009) Interactions of attention, emotion and motivation. *Prog Brain Res* 176:293–308.

doi: 10.1016/S0079-6123(09)17617-3

Redbo I, Nordblad A (1997) Stereotypies in heifers are affected by feeding regime. *Appl Anim Behav Sci* 53:193–202. doi: 10.1016/S0168-1591(96)01145-8

Reebs SG, Lague M (2000) Daily food-anticipatory activity in golden shiners: A test of endogenous timing mechanisms. *Physiol Behav* 70:35–43. doi: 10.1016/S0031-9384(00)00240-7

Reefmann N, Bütikofer Kaszàs F, Wechsler B, Gygax L (2009) Ear and tail postures as indicators of emotional valence in sheep. *Appl Anim Behav Sci* 118:199–207. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2009.02.013

Reimert I, Bolhuis JE, Kemp B, Rodenburg TB (2013) Indicators of positive and negative emotions and emotional contagion in pigs. *Physiol Behav* 109:42–50. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2012.11.002

Rhodin M, Johnston C, Roethlisberger Holm K, et al (2010) The influence of head and neck position on kinematics of the back in riding horses at the walk and trot. *Equine Vet J* 37:7–11. doi: 10.2746/0425164054406928

Ridgway K, Harman J (1999) Equine Back Rehabilitation. *Vet Clin North Am Equine Pract* 15:263–280. doi: 10.1016/S0749-0739(17)30176-1

Rivera E, Benjamin S, Nielsen B, et al (2002) Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Appl Anim Behav Sci* 78:235–352

Robert B, White BJ, Renter DG, Larson RL (2009) Evaluation of three-dimensional accelerometers to monitor and classify behavior patterns in cattle. *Comput Electron Agric* 67:80–84. doi: 10.1016/J.COMPAG.2009.03.002

Rochais C, Fureix C, Lesimple C, Hausberger M (2016a) Lower attention to daily environment: a novel cue for detecting chronic horses' back pain? *Sci Rep* 6:20117. doi: 10.1038/srep20117

Rochais C, Henry S, Fureix C, Hausberger M (2016b) Investigating attentional processes in

- depressive-like domestic horses (*Equus caballus*). Behav Processes 124:93–96. doi:
10.1016/J.BEPROC.2015.12.010
- Rochais C, Henry S, Hausberger M (2017a) Spontaneous attention-capture by auditory distractors as predictor of distractibility: a study of domestic horses (*Equus caballus*). Sci Rep 7:15283. doi:
10.1038/s41598-017-15654-5
- Rochais C, Henry S, Hausberger M (2018a) “Hay-bags” and “Slow feeders”: Testing their impact on horse behaviour and welfare. Appl Anim Behav Sci 198:52–59. doi:
10.1016/j.applanim.2017.09.019
- Rochais C, Henry S, Sankey C, et al (2014) Visual attention, an indicator of human-animal relationships? A study of domestic horses (*Equus caballus*). Front Psychol 5:108. doi:
10.3389/fpsyg.2014.00108
- Rochais C, Sébilleau M, Houdebine M, et al (2017b) A novel test for evaluating horses’ spontaneous visual attention is predictive of attention in operant learning tasks. Sci Nat 104:61. doi:
10.1007/s00114-017-1480-6
- Rochais C, Sébilleau M, Menoret M, et al (2018b) Attentional state and brain processes: state-dependent lateralization of EEG profiles in horses. Sci Rep 8:10153. doi: 10.1038/s41598-018-28334-9
- Rodenbeck A, Binder R, Geisler P, et al (2006) A Review of Sleep EEG Patterns. Part I: A Compilation of Amended Rules for Their Visual Recognition according to Rechtschaffen and Kales. Somnologie 10:159–175. doi: 10.1111/j.1439-054X.2006.00101.x
- Rogers L (2000) Evolution of hemispheric specialization: advantages and disadvantages. Brain Lang 73:236–253
- Rogers L, Andrew R (2002) Comparative Vertebrate Lateralization, Cambridge
- Rollin BE (1989) The unheeded cry: Animal consciousness, animal pain and science. New York, NY, US: Oxford University Press

- Rooney NJ, Clark CCA, Casey RA (2016) Minimizing fear and anxiety in working dogs: A review. *J Vet Behav* 16:53–64. doi: 10.1016/J.JVEB.2016.11.001
- Rose PE, Nash SM, Riley LM (2017) To pace or not to pace? A review of what abnormal repetitive behavior tells us about zoo animal management. *J Vet Behav Clin Appl Res* 20:11–21. doi: 10.1016/J.JVEB.2017.02.007
- Rosen R (1985) *Anticipatory Systems*. Pergamon Press
- Rousing T, Bonde M, Badsberg JH, Sørensen JT (2004) Stepping and kicking behaviour during milking in relation to response in human–animal interaction test and clinical health in loose housed dairy cows. *Livest Prod Sci* 88:1–8. doi: 10.1016/J.LIVPRODSCI.2003.12.001
- Rubenstein DI, Hack MA (1992) Horse signals: The sounds and scents of fury. *Evol Ecol* 6:254–260. doi: 10.1007/BF02214165
- Russell JA (1980) A circumplex model of affect. *J Pers Soc Psychol* 39:1161–1178. doi: 10.1037/h0077714
- Russell J, Barrett LF (1999) Core affect, prototypical emotional episodes, and other things called emotion: Dissecting the elephant. *J Pers Soc Psychol* 76:805–819
- Rygula R, Pluta H, Popik P (2012) Laughing Rats Are Optimistic. *PLoS One* 7:e51959. doi: 10.1371/journal.pone.0051959
- Salzen EA (1998) Emotion and self-awareness. *Appl Anim Behav Sci* 57:299–313. doi: 10.1016/S0168-1591(98)00104-X
- Sammler D, Grigutsch M, Fritz T, Koelsch S (2007) Music and emotion: Electrophysiological correlates of the processing of pleasant and unpleasant music. *Psychophysiology* 44:293–304. doi: 10.1111/j.1469-8986.2007.00497.x
- Sanger ME, Doyle RE, Hinch GN, Lee C (2011) Sheep exhibit a positive judgement bias and stress-induced hyperthermia following shearing. *Appl Anim Behav Sci* 131:94–103. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2011.02.001

- Sankey C, Henry S, André N, et al (2011) Do Horses Have a Concept of Person? PLoS One 6:e18331. doi: 10.1371/journal.pone.0018331
- Sankey C, Henry S, Górecka-Bruzda A, et al (2010a) The Way to a Man's Heart Is through His Stomach: What about Horses? PLoS One 5:e15446. doi: 10.1371/journal.pone.0015446
- Sankey C, Richard-Yris M-A, Henry S, et al (2010b) Reinforcement as a mediator of the perception of humans by horses (*Equus caballus*). Anim Cogn 13:753–765. doi: 10.1007/s10071-010-0326-9
- Sankey C, Richard-Yris M-A, Leroy H, et al (2010c) Positive interactions lead to lasting positive memories in horses, *Equus caballus*. Anim Behav 79:869–875. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2009.12.037
- Sato S, Tarumizu K, Hatae K (1993) The influence of social factors on allogrooming in cows. Appl Anim Behav Sci 38:235–244. doi: 10.1016/0168-1591(93)90022-H
- Scherer K (1987) Toward a Dynamic Theory of Emotion: The Component Process Model of Affective States. Geneva Stud Emot Commun 1:1–98
- Scherer K (1999) Appraisal theory. In: Handbook of cognition and emotion. John Wiley and Sons Ltd, pp 637–663
- Scherer KR (2005) What are emotions? And how can they be measured? Soc Sci Inf 44:695–729. doi: 10.1177/0539018405058216
- Scherer KR (1984) On the nature and function of emotion: a component process approach. In: KR S, P E (eds) Approaches to emotion. Hillsdale: Lawrence Erlbaum, pp 297–317
- Scheumann M, Zimmermann E, Deichsel G (2007) Context-specific calls signal infants' needs in a strepsirrhine primate, the gray mouse lemur (*Microcebus murinus*). Dev Psychobiol 49:708–718. doi: 10.1002/dev.20234
- Schmidt LA, Trainor LJ (2001) Frontal brain electrical activity (EEG) distinguishes valence and intensity of musical emotions. Cogn Emot 15:487–500. doi: 10.1080/02699930126048

- Schmied C, Waiblinger S, Scharl T, et al (2008) Stroking of different body regions by a human: Effects on behaviour and heart rate of dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 109:25–38. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2007.01.013
- Schneider M, Nogge G, Kolter L (2014) Implementing unpredictability in feeding enrichment for Malayan sun bears (*Helarctos malayanus*). *Zoo Biol* 33:54–62. doi: 10.1002/zoo.21112
- Schrader L, Ladewig J (1999) Temporal differences in the responses of the pituitary adrenocortical axis, the sympathoadrenomedullar axis, heart rate, and behaviour to a daily repeated stressor in domestic pigs. *Physiol Behav* 66:775–783. doi: 10.1016/S0031-9384(99)00015-3
- Schupp HT, Flaisch T, Stockburger J, Junghöfer M (2006) Emotion and attention: event-related brain potential studies. *Prog Brain Res* 156:31–51. doi: 10.1016/S0079-6123(06)56002-9
- Sebastiani L, Simoni A, Gemignani A, et al (2003) Autonomic and EEG correlates of emotional imagery in subjects with different hypnotic susceptibility. *Brain Res Bull* 60:151–160. doi: 10.1016/S0361-9230(03)00025-X
- Segerstrom SC (2001) Optimism and attentional bias for negative and positive stimuli. *Personal Soc Psychol Bull* 27:1334–1343
- Seligman MEP, Csikszentmihalyi M (2000) Positive psychology: An introduction. *Am Psychol* 55:5–14
- Selye H (1936) A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138:32
- Semple S, Harrison C, Lehmann J (2013) Grooming and anxiety in barbary macaques. *Ethology* 119:779–785. doi: 10.1111/eth.12119
- Seyfarth R, Cheney D (2003) Meaning and emotion in animal vocalizations. *Ann N Y Acad Sci* 1000:32–55
- Shepard E, Wilson R, Quintana F, et al (2008) Identification of animal movement patterns using tri-axial accelerometry. *Endanger Species Res* 10:47–60. doi: 10.3354/esr00084

- Shibasaki M, Kawai N (2009) Rapid detection of snakes by Japanese monkeys (*Macaca fuscata*): An evolutionarily predisposed visual system. *J Comp Psychol* 123:131–135. doi: 10.1037/a0015095
- Sieber OJ (1984) Vocal Communication in Raccoons (*Procyon Lotor*). *Behaviour* 90:80–113. doi: 10.1163/156853984X00560
- Siebert K, Langbein J, Schön P-C, et al (2011) Degree of social isolation affects behavioural and vocal response patterns in dwarf goats (*Capra hircus*). *Appl Anim Behav Sci* 131:53–62. doi: 10.1016/j.applanim.2011.01.003
- Siegel S, Castellan J (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*, 2nd edn. New York
- Siniscalchi M, d'Ingeo S, Fornelli S, Quaranta A (2018) Lateralized behavior and cardiac activity of dogs in response to human emotional vocalizations. *Sci Rep* 8:77. doi: 10.1038/s41598-017-18417-4
- Siniscalchi M, Laddago S, Quaranta A (2016) Auditory lateralization of conspecific and heterospecific vocalizations in cats. *Laterality Asymmetries Body, Brain Cogn* 21:215–227. doi: 10.1080/1357650X.2015.1116541
- Skinner BF (1976) *About Behaviourism*, Jonathan C
- Soltis J, Blowers, TE, Savage A (2011) Measuring positive and negative affect in the voiced sounds of African elephants (*Loxodonta africana*). *J Acoust Soc Am* 129:1059–1066. doi: 10.1121/1.3531798
- Soltysik S, Jelen P (2005) In rats, sighs correlate with relief. *Physiol Behav* 85:598–602. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2005.06.008
- Søndergaard E, Bak Jensen M, Nicol CJ (2011) Motivation for social contact in horses measured by operant conditioning. *Appl Anim Behav Sci* 132:131–137. doi: 10.1016/j.applanim.2011.04.007
- Sotocina SG, Sorge RE, Zaloum A, et al (2011) The rat grimace scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain* 7:1744-8069-7–55. doi: 10.1186/1744-8069-7-55

- Spinka M, Newberry RC, Bekoff M (2001) Mammalian Play: Training for the Unexpected. *Q. Rev. Biol.* 76:141–168
- Spruijt BM, van den Bos R (2008) Stress sensitization and exaggerated reward-responses: the role of VTA opioids. In: *Stereotypic animal behaviour : Fundamentals and applications to Welfare.* p 231
- Spruijt BM, van den Bos R, Pijlman FTA (2001) A concept of welfare based on reward evaluating mechanisms in the brain: anticipatory behaviour as an indicator for the state of reward systems. *Appl Anim Behav Sci* 72:145–171. doi: 10.1016/S0168-1591(00)00204-5
- Spruijt BM, van Hooff JA, Gispen WH (1992) Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol Rev* 72:825–52. doi: 10.1152/physrev.1992.72.3.825
- Starkstein SE, Petracca G, Tesón A, et al (1996) Catatonia in depression: prevalence, clinical correlates, and validation of a scale. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 60:326–32. doi: 10.1136/JNPNP.60.3.326
- Steiner JE, Glaser D, Hawilo ME, Berridge KC (2001) Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neurosci Biobehav Rev* 25:53–74. doi: 10.1016/S0149-7634(00)00051-8
- Steriade M (2005) Cellular substrates of brain rhythms. In: Niedermeyer E, Lopes da Silva F. (eds) *Electroencephalography : basic principles, clinical applications, and related fields*, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins Williams & Wilkins, p 1309
- Stewart M, Foster T., Waas J. (2003) The effects of air transport on the behaviour and heart rate of horses. *Appl Anim Behav Sci* 80:143–160. doi: 10.1016/S0168-1591(02)00212-5
- Stewart M, Stratton RB, Beausoleil NJ, et al (2011) Assessment of positive emotions in horses: Implications for welfare and performance. *J Vet Behav Clin Appl Res* 6:296
- Stomp M, Leroux M, Cellier M, et al (2018a) An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses. *PLoS One* 13:e0197898. doi: 10.1371/journal.pone.0197898

- Stomp M, Leroux M, Cellier M, et al (2018b) Snort acoustic structure codes for positive emotions in horses. *Sci Nat* 105:57. doi: 10.1007/s00114-018-1582-9
- Storch K-F, Weitz CJ (2009) Daily rhythms of food-anticipatory behavioral activity do not require the known circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:6808–13. doi: 10.1073/pnas.0902063106
- Symes CT, Perrin MR (2003) Feeding biology of the Greyheaded Parrot, *Poicephalus fuscicollis suahelicus* (Reichenow), in Northern Province, South Africa. *Emu - Austral Ornithol* 103:49–58. doi: 10.1071/MU01038
- Tallet C, Linhart P, Policht R, et al (2013) Encoding of Situations in the Vocal Repertoire of Piglets (*Sus scrofa*): A Comparison of Discrete and Graded Classifications. *PLoS One* 8:e71841. doi: 10.1371/journal.pone.0071841
- Tamioso PR, Maiolino Molento CF, Boivin X, et al (2018a) Inducing positive emotions: Behavioural and cardiac responses to human and brushing in ewes selected for high vs low social reactivity. *Appl Anim Behav Sci*. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2018.08.001
- Tamioso PR, Maiolino Molento CF, Boivin X, et al (2018b) Inducing positive emotions: Behavioural and cardiac responses to human and brushing in ewes selected for high vs low social reactivity. *Appl Anim Behav Sci* 0:. doi: 10.1016/j.applanim.2018.08.001
- Taylor AM, Reby D, McComb K (2009) Context-related variation in the vocal growling behaviour of the domestic dog (*Canis familiaris*). *Ethology* 115:905–915. doi: 10.1111/j.1439-0310.2009.01681.x
- Taylor JG, Fragopanagos NF (2005) The interaction of attention and emotion. *Neural Networks* 18:353–369. doi: 10.1016/J.NEUNET.2005.03.005
- Thorne JB, Goodwin D, Kennedy MJ, et al (2005) Foraging enrichment for individually housed horses: Practicality and effects on behaviour. *Appl Anim Behav Sci* 94:149–164. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2005.02.002
- Tidey JW, Miczek KA (1997) Acquisition of cocaine self-administration after social stress: role of

- accumbens dopamine. *Psychopharmacology (Berl)* 130:203–212. doi: 10.1007/s002130050230
- Tinbergen N (1952) “Derived” activities; Their causation, biological significance, origin, and emancipation during evolution. *Q Rev Biol* 27:1–32. doi: 10.1086/398642
- Tinker MK, White NA, Lessard P, et al (1997) Prospective study of equine colic risk factors. *Equine Vet J* 29:454–458. doi: 10.1111/j.2042-3306.1997.tb03158.x
- Travain T, Colombo ES, Grandi LC, et al (2016) How good is this food? A study on dogs’ emotional responses to a potentially pleasant event using infrared thermography. *Physiol Behav* 159:80–87. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2016.03.019
- Ursin H, Eriksen HR (2004) The cognitive activation theory of stress. *Psychoneuroendocrinology* 29:567–592. doi: 10.1016/S0306-4530(03)00091-X
- Valenchon M, Lévy F, Fortin M, et al (2013) Stress and temperament affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*. *Anim Behav* 86:1233–1240. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2013.09.026
- van den Bos R, Meijer MK, van Renselaar JP, et al (2003) Anticipation is differently expressed in rats (*Rattus norvegicus*) and domestic cats (*Felis silvestris catus*) in the same Pavlovian conditioning paradigm. *Behav Brain Res* 141:83–89. doi: 10.1016/S0166-4328(02)00318-2
- van der Harst JE, Baars A-M, Spruijt BM (2003a) Standard housed rats are more sensitive to rewards than enriched housed rats as reflected by their anticipatory behaviour. *Behav Brain Res* 142:151–156. doi: 10.1016/S0166-4328(02)00403-5
- van der Harst JE, Baars A-M, Spruijt BM (2005) Announced rewards counteract the impairment of anticipatory behaviour in socially stressed rats. *Behav Brain Res* 161:183–189. doi: 10.1016/J.BBR.2005.02.029
- van der Harst JE, Fermont PCJ, Bilstra AE, Spruijt BM (2003b) Access to enriched housing is rewarding to rats as reflected by their anticipatory behaviour. *Anim Behav* 66:493–504. doi: 10.1006/ANBE.2003.2201

- van der Harst JE, Spruijt BM (2007) Tools to measure and improve animal welfare: reward-related behaviour. *Anim Welf* 16:67–73
- Van Hooff JA (1967) The Facial Displays of the Catarrhine Monkeys and Apes. In: Morris D (ed) *Primate ethology*. New Brunswick, NJ, US: AldineTransaction, pp 7–68
- van Loon JPAM, Van Dierendonck MC (2015) Monitoring acute equine visceral pain with the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain (EQUUS-FAP): A scale-construction study. *Vet J* 206:356–364. doi: 10.1016/J.TVJL.2015.08.023
- van Rooijen J (1982) The value of choice tests in assessing welfare of domestic animals. *Appl Anim Ethol* 8:295–299
- Vanderschuren LJMJ, Niesink RJM, Van Pee JM (1997) The neurobiology of social play behavior in rats. *Neurosci Biobehav Rev* 21:309–326. doi: 10.1016/S0149-7634(96)00020-6
- Verduyn P, Van Mechelen I, Tuerlinckx F (2011) The relation between event processing and the duration of emotional experience. *Emotion* 11:20–28
- Vinke C, van Leeuwen J, Spruijt BM (2005) Juvenile mink (*Mustela vison*) with additional access to swimming water play more frequently than animals housed with a cylinder and platform, but without swimming water. *Anim Welf* 14:53–60
- Vinke CM, Van Den RB, Spruijt BM (2004) Anticipatory activity and stereotypical behaviour in American mink (*Mustela vison*) in three housing systems differing in the amount of enrichments. *Appl Anim Behav Sci* 89:145–161. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2004.06.002
- Visser EK, Ellis AD, Van Reenen CG (2008) The effect of two different housing conditions on the welfare of young horses stabled for the first time. *Appl Anim Behav Sci* 114:521–533. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2008.03.003
- Vlemincx E, van Diest I, de Peuter S, et al (2009) Why do you sigh? Sigh rate during induced stress and relief. *Psychophysiology* 46:1005–1013. doi: 10.1111/j.1469-8986.2009.00842.x

- Volodina E V. (1997) Vocalization as emotional indicator in *Cheetah Acinonyx jubatus* in captivity. Nauchn 9:149–162
- von Borell E, Bünger B, Schmidt T, Horn T (2009) Vocal-type classification as a tool to identify stress in piglets under on-farm conditions. Anim Welf 18:407–416
- von Borell E, Langbein J, Després G, et al (2007) Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. Physiol Behav 92:293–316. doi: 10.1016/J.PHYSBEH.2007.01.007
- von Borstel U, König S (2008) Effect of rider relaxation on horse behaviour and heart rate. In: 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. p 173
- von Borstel UU, Duncan IJH, Shoveller AK, et al (2009) Impact of riding in a coercively obtained Rollkur posture on welfare and fear of performance horses. Appl Anim Behav Sci 116:228–236. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2008.10.001
- Vuilleumier P (2005) How brains beware: neural mechanisms of emotional attention. Trends Cogn Sci 9:585–594. doi: 10.1016/J.TICS.2005.10.011
- Waiblinger S, Menke C, Korff J, Bucher A (2004) Previous handling and gentle interactions affect behaviour and heart rate of dairy cows during a veterinary procedure. Appl Anim Behav Sci 85:31–42. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2003.07.002
- Walker MD, Mason G (2011) Female C57BL/6 mice show consistent individual differences in spontaneous interaction with environmental enrichment that are predicted by neophobia. Behav Brain Res 224:207–212. doi: 10.1016/J.BBR.2011.06.003
- Waller BM, Micheletta J (2013) Facial Expression in Nonhuman Animals. Emot Rev 5:54–59. doi: 10.1177/1754073912451503
- Waring GH (2003) Horse behavior. The behavioral traits and adaptations of domestic and wild horses, including ponies. Horse Behav Behav Trait Adapt Domest wild horses, Incl ponies
- Watanuki S, Kim Y-K (2005) Physiological Responses Induced by Pleasant Stimuli. J Physiol

- Anthropol Appl Human Sci 24:135–138. doi: 10.2114/jpa.24.135
- Wathan J, Burrows AM, Waller BM, McComb K (2015) EquiFACS: The Equine Facial Action Coding System. PLoS One 10:e0131738. doi: 10.1371/journal.pone.0131738
- Watson D, Wiese D, Vaidya J, Tellegen A (1999) The two general activation systems of affect: Structural findings, evolutionary considerations, and psychobiological evidence. J Pers Soc Psychol 76:820–838
- Watters J V. (2014) Searching for behavioral indicators of welfare in zoos: Uncovering anticipatory behavior. Zoo Biol 33:251–256. doi: 10.1002/zoo.21144
- Watters J V., Miller JT, Sullivan TJ (2011) Note on optimizing environmental enrichment: a study of fennec fox and zoo guests. Zoo Biol 30:647–654. doi: 10.1002/zoo.20365
- Weary DM, Fraser D (1995) Signalling need: costly signals and animal welfare assessment. Appl Anim Behav Sci 44:159–169. doi: 10.1016/0168-1591(95)00611-U
- Weeks J (1996) Equine agitation behavior. Equine Pract 18:23–24
- Whay H, Main D, Green L, Webster A (2003) Observations and investigation of farm. Vet Rec 153:197–202
- Whittaker X, Spooler HA., Edwards S., et al (1998) The influence of dietary fibre and the provision of straw on the development of stereotypic behaviour in food restricted pregnant sows. Appl Anim Behav Sci 61:89–102. doi: 10.1016/S0168-1591(98)00183-X
- Willard J., Willard JC, Wolfram SA, Baker JP (1977) Effect of Diet on Cecal Ph and Feeding Behavior of Horses 1,2. J Anim Sci 45:87–93
- Williams CT, Barnes BM, Kenagy GJ, Buck CL (2014) Phenology of hibernation and reproduction in ground squirrels: integration of environmental cues with endogenous programming. J Zool 292:112–124. doi: 10.1111/jzo.12103
- Williams LR, Warren-Smith AK (2010) Conflict responses exhibited by dressage horses during

- competition. *J Vet Behav Clin Appl Res* 5:215. doi: 10.1016/j.jveb.2009.11.002
- Willner P, Muscat R, Papp M (1992) Chronic mild stress-induced anhedonia: A realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 16:525–534. doi: 10.1016/S0149-7634(05)80194-0
- Wolff A, Hausberger M, Le Scolan N (1997) Experimental tests to assess emotionality in horses. *Behav Processes* 40:209–221. doi: 10.1016/S0376-6357(97)00784-5
- Wood-Gush DGM, Vestergaard K, Petersen H V. (1990) The significance of motivation and environment in the development of exploration in pigs. *Biol Behav* 15:39–52
- Wood J. (1998) Quality assurance schemes. *Meat Sci* 49:191–203
- Woodson JC, Macintosh D, Fleshner M, Diamond DM (2003) Emotion-induced amnesia in rats: working memory-specific impairment, corticosterone-memory correlation, and fear versus arousal effects on memory. *Learn Mem* 10:326–36. doi: 10.1101/lm.62903
- Wróbel A, Ghazaryan A, Bekisz M, et al (2007) Two streams of attention-dependent beta activity in the striate recipient zone of cat's lateral posterior-pulvinar complex. *J Neurosci* 27:2230–40. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4004-06.2007
- Wyczesany M, Kaiser J, Coenen AM. (2008) Subjective mood estimation co-varies with spectral power EEG characteristics. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 68:180–192
- Xitco MJ, Gory JD, Kuczaj SA (2001) Spontaneous pointing by bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Anim Cogn* 4:115–123. doi: 10.1007/s100710100107
- Yeates JW, Main DCJ (2008) Assessment of positive welfare: A review. *Vet J* 175:293–300. doi: 10.1016/J.TVJL.2007.05.009
- Yeon SC (2012) Acoustic communication in the domestic horse (*Equus caballus*). *J Vet Behav Clin Appl Res* 7:179–185. doi: 10.1016/J.JVEB.2011.08.004
- Yeon SC, Kim YK, Park SJ, et al (2011) Differences between vocalization evoked by social stimuli in feral cats and house cats. *Behav Processes* 87:183–189. doi: 10.1016/J.BEPROC.2011.03.003

Yin S, McCowan B (2004) Barking in domestic dogs: context specificity and individual identification.

Anim Behav 68:343–355. doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2003.07.016

Zahavi A (1987) The theory of signal selection and some of its implication. In: International

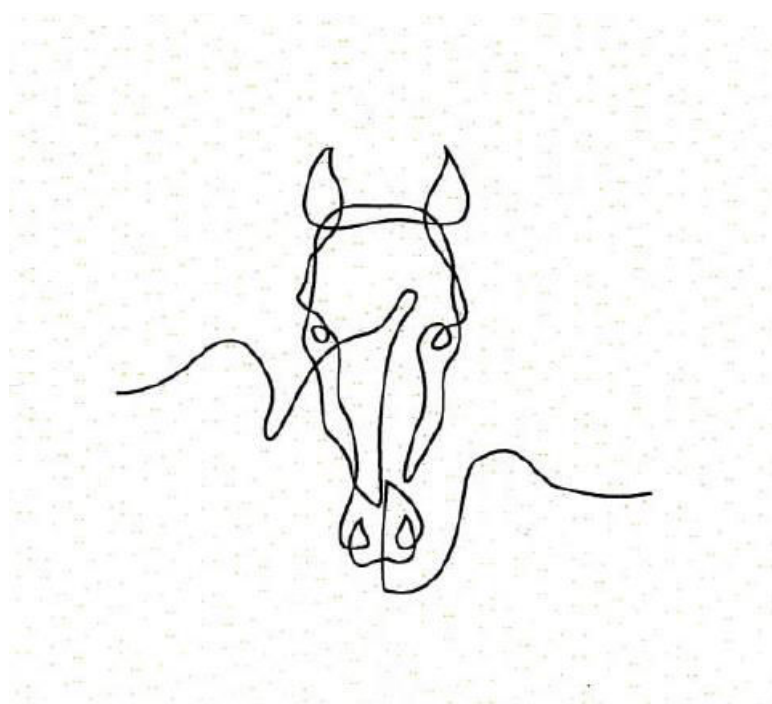
symposium of biological evolution. Adiatca editrice, Bari, Italy, pp 305–327

Zebunke M, Langbein J, Manteuffel G, Puppe B (2011) Autonomic reactions indicating positive affect

during acoustic reward learning in domestic pigs. *Anim Behav* 81:481–489. doi:

10.1016/J.ANBEHAV.2010.11.023

Annexes



ANNEXE I

Compte rendu de la 44ème Journée de la Recherche Equine, 2018

Un indicateur acoustique d'émotion positive inattendu chez le cheval ?

M. Stomp¹, M. Leroux¹, M. Cellier¹, S. Henry¹, A. Lemasson¹, M. Hausberger²

1 Université de Rennes, UMR 6552 Ethologie Animale et Humaine, CNRS, Université de Caen-Normandie, Station Biologique de Paimpont, France

2 CNRS, UMR 6552 Ethologie animale et humaine, Université de Rennes, Université de Caen-Normandie, France



institut français
du **cheval**
et de l'**équitation**



44^{ème} Journée de la Recherche Équine Jeudi 15 mars 2018

Un indicateur acoustique d'émotion positive inattendu chez le cheval ?

M. Stomp¹, M. Leroux¹, M. Cellier¹, S. Henry¹, A. Lemasson¹, M. Hausberger²

¹ Université de Rennes, UMR 6552 Ethologie Animale et Humaine, CNRS, Université de Caen-Normandie, Station Biologique de Paimpont, France

² CNRS, UMR 6552 Ethologie animale et humaine, Université de Rennes, Université de Caen-Normandie, France

Résumé

Aujourd'hui chez le cheval il existe un manque d'indicateurs d'émotions positives facilement identifiables par les utilisateurs. Un lien possible entre signaux acoustiques et état interne de l'animal a été proposé. Des études mentionnent que les ébrouements seraient associés à des contextes positifs chez certains ongulés et nous avons donc testé cette hypothèse chez le cheval. Nous avons supposé que ce son pourrait, suite à un changement physiologique lié à une excitation positive modérée, refléter l'état psychologique de l'animal. Les résultats obtenus sur 48 chevaux vivant dans deux conditions "extrêmes" ("classiques" vs "seminaturalistes") montrent que la production d'ébrouements est significativement associée avec des situations positives (ex: lors de l'alimentation; au pré) et des postures plutôt positives (oreilles en avant). De plus, la fréquence d'émission des ébrouements était d'autant plus faible que les chevaux étaient en état de mal-être. Ces résultats convergent pour indiquer que les ébrouements pourraient traduire un état immédiat positif, au moins hors situation de travail (pas encore testée).

Mots clés : émotion positive, bien-être, ébrouement, bioacoustique, cheval

Summary

Assessing positive emotions is crucial for identifying how animals perceive the conditions offered. However, today there is a crucial lack of indicators. However, there are some hints that some non-vocal sounds may reflect positive emotions in animals. In other species of ungulates, there are a few reports indicating that they may be produced more in positive situations. We supposed that snort may result from a physiological change following a positive emotion of low intensity, reflecting the psychologic state of the animal. Results obtained from 48 horses living in two "extreme" conditions ("classical life" vs "naturalistic-like" conditions) show that snort production was significantly associated with positive situations (e.g. while feeding; in pasture) and with ears in forward or sideways positions (reflecting a more positive internal state). Moreover, the frequency of snorts was

especially negatively correlated with the total chronic stress score (reflecting compromised welfare). These results converge to indicate that snorts could reflect a positive emotional state, at least outside the working situation (not tested yet).

Key-words: positive emotion, welfare, snort, bioacoustic, horse

Introduction

L'évaluation des émotions positives représente encore aujourd'hui un vrai défi pour la recherche (Boissy *et al.*, 2007), d'autant plus que les propositions d'indicateurs potentiels sont assez rares. Cette difficulté est largement due au fait que, contrairement aux émotions négatives, les émotions positives sont difficiles à mesurer et les différents indicateurs déjà avancés dans la littérature semblent équivoques. En effet parmi les indicateurs comportementaux présentés, le jeu chez l'adulte pourrait représenter un état positif transitoire, mais est davantage présent chez les chevaux ou macaques stressés (Hausberger *et al.*, 2012). Par ailleurs, la situation d'anticipation d'un événement positif (ex : repas) pose question puisque les comportements exprimés durant ce contexte sont ambigus (e.g. comportements stéréotypiques, bâillement) (Fureix *et al.*, 2011; Peters *et al.*, 2012) et reflètent globalement des émotions de forte intensité comme le prouve l'agitation des animaux lors de cette phase d'anticipation (Peters *et al.*, 2012). La question de l'intensité des émotions positives (excitation/calme) est d'ailleurs un aspect peu considéré, la plupart des études proposant des indicateurs d'émotions positives de forte intensité (e.g. jeu social : (Boissy *et al.*, 2007) alors qu'il est plus rare de trouver des marqueurs d'émotion positive de faible intensité (cf Hausberger *et al.*, 2016b). Cette divergence peut avoir son importance, particulièrement si l'on prend en considération que pour certains auteurs, le bien-être est un état calme de satisfaction des besoins (e.g. Boissy *et al.*, 2007).

Différentes études ont montré un lien entre signaux vocaux et émotions négatives (ex : cris de détresse lors de séparations sociales chez les porcelets), peu en revanche ont exploré le lien avec les émotions positives (e.g. chez les éléphants : Soltis et al 2011). Les animaux produisent aussi des signaux acoustiques non-vocaux qui ont probablement des chances de refléter l'état interne encore plus que les sons vocaux, davantage « maîtrisés » par l'individu. Le ronronnement par exemple, considéré comme un signal non-vocal, a été associé à un état « détendu, amical et probablement rassurant/apaisant » chez les félins (Peters, 2002). D'autres signaux tel que les « ébrouements » pourraient être associés avec des états émotionnels positifs chez les rhinocéros (Policht *et al.*, 2008) et les tapirs (Montenegro, 1998).

Les chevaux produisent des signaux à la fois vocaux (ex : hennissement) et non-vocaux, dont des ébrouements et des sons clairement associés à des états internes particuliers comme le soufflement qui correspond à une expiration par les naseaux intense et très rapide ; ou le ronflement, son rauque produit au cours d'une rapide inhalation généralement, associés à des contextes de vigilance/postures d'alarme (Waring 2003). La terminologie de ces différents sons est encore très variable d'une étude à l'autre, ajoutant de la confusion au manque d'études scientifiques sur leurs possibles causalités et fonctions. L'ébrouement par exemple est un son vibré produit par les naseaux pendant une expiration forcée, auquel jusqu'ici on a surtout attribué une fonction hygiénique de "nettoyage" des naseaux (Kiley, 1972). Or, des observations préliminaires ont révélé que les chevaux en produisent plus dans certains établissements que dans d'autres et que certains individus en produisent plus que d'autres, sans claire relation avec les conditions de l'air ou l'état respiratoire. Sur la base de ces observations et de celles d'autres auteurs sur d'autres ongulés, nous avons émis l'hypothèse que ce signal acoustique pourrait être le reflet comportemental d'un changement physiologique transitoire lié à une émotion positive d'intensité modérée. L'occurrence des ébrouements en lien avec le contexte immédiat ainsi que le comportement et la posture de l'animal ont donc été mesurés. Nous avons supposé qu'il y aurait

davantage d'ébrouements quand les chevaux se trouvaient dans des conditions plus favorables (ex : pré pour des chevaux vivant en box, (Søndergaard *et al.*, 2011) et que leurs activités et postures correspondraient à des états calmes et plutôt positifs.

Par ailleurs, des individus en état de bien-être ont plus de chances de ressentir des émotions positives (Löckener *et al.*, 2016). Ainsi, des chevaux vivant dans des conditions extrêmes : box individuel, fourrage restreint et équitation contrainte versus conditions semi-naturalistes en groupes stables au pré et équitation de loisir, diffèrent clairement en termes de bien-être et de biais cognitif, c'est-à-dire dans leur évaluation d'une même situation ambiguë, les chevaux en meilleures conditions étant plus « optimistes » (i.e. percevant plus positivement la situation) (Henry *et al.*, 2017). Nous avons donc repris ce paradigme en comparant des populations vivant en conditions restreintes à des populations en conditions plus « naturalistes » et supposé que les chevaux en état de bien-être seraient plus enclins à produire des ébrouements que les chevaux en état de mal-être dans une même situation favorable. Nous avons effectué une évaluation du bien-être des chevaux sur la base des indicateurs validés (e.g. Fureix *et al.*, 2010) et testé s'il y avait un lien entre cet état et la production d'ébrouements.

1 Matériel et Méthode

1.1 Sujets d'étude, sites et conditions d'élevage

Cette étude a été menée en Bretagne sur un total de 48 chevaux (18 juments, 25 hongres et 5 entiers) de races (31,2% de Selles Français) et âges (4 à 25 ans) variés. Tous vivaient depuis au moins un an dans les conditions de vie dans lesquels ils ont été observés.

Les deux premières populations étaient issues de centres équestres, RSA et RSB (« RSA » : N=19, cinq juments et 14 hongres, âge : $X + SE = 10,5 \pm 3,0$ ans ; « RSB » : N=18, neuf juments et neuf hongres, âge : $X + SE = 13 \pm 4,8$ ans). Dans chaque centre, les chevaux étaient logés en boxes individuels (3m * 3m, nettoyés chaque matin, équipé d'un abreuvoir automatique ; comportant des grilles permettant un contact visuel avec les congénères) et nourris à raison de deux repas de concentrés par jour et d'une distribution quotidienne de foin. Les chevaux étaient travaillés 4 à 12h par semaine (incluant des reprises d'équitation pour différents niveaux de cavaliers allant de débutant à confirmé, sous la supervision d'un moniteur d'équitation) selon des techniques d'équitation classiques (voir aussi Lesimple *et al.*, 2016; Normando *et al.*, 2003)). Les deux centres équestres se distinguaient par de légères différences dans les pratiques de gestion : les chevaux de RSA sortaient au paddock (avec herbe) tous les jours une à quatre heures avec des partenaires sociaux variables selon le jour, tandis que les individus de RSB sortaient au paddock (avec ou sans herbe) en groupes sociaux stables (de 2 à 11 individus) environ six heures par jour tous les jours. Enfin, les litières étaient différentes selon le centre : paille pour RSA, copeaux de bois pour RSB.

Les deux autres populations (« NC1 » : N=3, 3 entiers, âge : $X + SE = 8, \pm 6,3$; « NC2 » : N=8, deux entiers, deux hongres et quatre juments, âge : $X + SE = 17,8 \pm 4,6$) étaient constituées de chevaux de loisir vivant en conditions semi-naturalistes toute l'année, i.e. groupes sociaux stables de deux à quatre individus, dans des prairies naturelles de 1-2 ha, nourris d'herbe, et de foin ad libitum en hiver et montés occasionnellement lors de sorties en extérieur (i.e. mains basses et rênes longues (cf aussi Henry *et al.*, 2017). Etant donné qu'aucune différence n'a été observée entre les deux populations de loisirs (NC1 et NC2) en termes de d'âge, taux d'ébrouements, conditions corporelles et paramètres de mal-être, (tests de Mann Whitney, $p > 0,05$), les données des deux sites semi-naturalistes ont été regroupées

pour le reste des analyses. Ainsi ces deux groupes ont été fusionnés en un seul et même groupe « NC » (N=11, cinq entiers, quatre hongres et quatre juments, âge : $X \pm SE = 15,3 \pm 6,4$).

Seuls des chevaux dépourvus de problèmes respiratoires visibles ou connus ont été considérés.

1.2 Collecte des données

1.2.1 Production d'ébrouement et contexte immédiat

Les sons émis par les individus ont été observés par un expérimentateur, n'ayant pas eu connaissance des données sur l'évaluation de l'état de bien-être, en utilisant une méthode classique d'observation en continu par sessions de cinq minutes (Altmann, 1974). Les chevaux de centre équestre ont été observés à la fois au box et au pré, alors que les sessions d'observation des chevaux de loisir ont eu lieu uniquement au pré. Le contexte (box/pré) ainsi que la posture et l'activité (cf plus loin) des individus, au temps exact de l'émission du son, ont été enregistrés. Les observations ont été enregistrées sur un dictaphone pour analyse ultérieure.

Dans les écuries, l'expérimentateur a suivi une route standardisée ponctuée de différents points d'observation, de sorte que chaque point corresponde à l'observation de deux chevaux voisins simultanément. Et ce, jusqu'à l'observation de tous les individus.

Lors des observations en extérieur, l'expérimentateur a suivi également une route standardisée le menant à chacun des différents groupes. Un seul individu du centre RSB n'a pu être observé dans ces conditions. En moyenne, 12 ± 3 sessions d'observation en continu ont été réalisées par cheval par contexte (box et/ou pré).

De plus, afin de déterminer l'état interne des individus au moment précis des ébrouements, l'observateur a rapporté l'activité (tout comportement) et la position des oreilles de l'émetteur. La position des oreilles est en effet un indicateur de l'état interne actuel des animaux. Chez les chevaux, les oreilles en arrière sont communément associées à des états émotionnels négatifs, comme l'inconfort ou la douleur (*e.g.* (Ashley *et al.*, 2005). En revanche les oreilles positionnées en avant ou sur le côté sont plutôt synonymes d'attention et d'émotions positives (Fureix *et al.*, 2010; Hausberger *et al.*, 2016b; Rochais *et al.*, 2016). Les quatre positions d'oreilles ont été définies de la même manière que de précédentes études (*e.g.* Fureix *et al.*, 2010; Lesimple *et al.*, 2016)

Par ailleurs, nous avons eu l'opportunité d'enregistrer les productions acoustiques de quatre chevaux de loisir entrant dans un nouveau pré, offrant de nouvelles ressources, nous permettant ainsi de reconstituer pour les chevaux de loisir une situation de contraste à l'image de celle que vivent les chevaux des centres équestres passant du box au pré.

1.2.2 Evaluation du bien-être

L'état chronique des individus a été évalué par un second observateur, n'ayant pas eu connaissance des données acoustiques récoltées.

Tout d'abord des mesures de l'état corporel des chevaux ont été conduites au début de l'étude. Un score de condition corporelle (BCS) a été défini selon l'échelle de mesure créée par Arnaud *et al.* (1997). Le score peut aller de 0 (émacié) à 5 (obèse). Par ailleurs, des études précédentes ont montré que les problèmes de dos sont très fréquents et sources de mal-être chez les chevaux de centre équestre (Lesimple *et al.* 2016b). Il existe peu d'indices visibles in situ de ce problème mais il a été montré que la forme d'encolure peut refléter l'état de la colonne vertébrale chez ces chevaux (Lesimple *et al.* 2012) : une encolure creuse ou plate peut refléter des tensions musculaires dans différentes parties de la colonne vertébrale, alors qu'une encolure ronde signifie plutôt que l'individu

a un dos sain. Sur la base des mesures d'angles, nous avons donc classé la forme d'encolure des individus selon les deux catégories suivantes : creuse/plate ou arrondie (voir (Lesimple *et al.*, 2012) pour plus de détails).

Puis afin de compléter l'évaluation de l'état de bien-être des chevaux, des mesures additionnelles ont été réalisées sur quatre indicateurs de mal-être validés.

- Deux indicateurs comportementaux ont été mesurés au box :

La fréquence de comportements stéréotypiques (SB) (e.g. tic à l'appui ; tic à l'ours) et de comportements répétés anormaux (ARB) (e.g. léchages compulsifs/morsures répétées de l'environnement) qui apparaissent, chez le cheval comme chez d'autres espèces, surtout dans des conditions de vie défavorables. Six sessions de 10 minutes d'observation en continu ont été réalisées, réparties sur trois périodes de temps : 9h-11h ; 14h-17h et 30 minutes avant la distribution de nourriture (période favorable à l'apparition de ce type de comportement (e.g. (Fureix *et al.*, 2011a)).

Le nombre de comportements agressifs dirigés vers l'Homme, mesurés au cours de trois tests standardisés de relation à l'Homme (test de présence passive, test d'approche soudaine et test d'approche-contact. Tout comportement agonistique (oreilles couchées en arrière, menace, tentative de morsure) dirigé vers l'expérimentateur a été compté au cours de ces trois tests, réalisés dans leur box pour les chevaux de centre équestre et au pré pour les chevaux de loisir. Des comportements agressifs envers l'Homme sont souvent observés quand les chevaux ressentent de la douleur, aigue ou chronique (e.g. Hausberger *et al.* 2016, Fureix *et al.* 2010).

- Deux indicateurs posturaux :

La position des oreilles en alimentation (contexte le plus fiable, Fureix *et al.* 2010b) a été relevée au cours d'observations lors de temps calme en écurie pour le contexte « box » des chevaux de RSA et RSB, et au pré pour les chevaux de loisir et les chevaux de centre équestre pour le contexte « pré ». Trois positions ont été considérées : pavillons orientés vers l'avant, le côté ou l'arrière. Le pourcentage de temps passé dans chacune de ces positions a été calculé par cheval. Un temps important (>50%) passé à s'alimenter les oreilles en arrière est associé à des problèmes de bien-être (ex : douleur chronique (Fureix *et al.*, 2010)).

L'orientation du cheval vers un mur du box quand le cheval est immobile a été également mesurée pour les chevaux de centre équestre uniquement. Le « retrait sensoriel » traduit par cette orientation est souvent présent chez les chevaux « dépressifs » (Fureix *et al.* 2012) mais aussi chez des chevaux souffrant de problèmes de santé comme une anémie par exemple (Hausberger *et al.*, 2016a). Le pourcentage de temps passé dans cette position (hors temps d'alimentation) a été calculé par cheval.

Pour ces deux derniers paramètres, l'échantillonnage a été réalisé selon la méthode du pointage (scan sampling), à raison d'un scan toutes les deux minutes. Deux sessions de 30 minutes par contexte (box et pré) et par individu ont été réalisées sur une journée, et cette opération a été répétée à nouveau le jour suivant, permettant d'obtenir 62 scans par contexte pour les oreilles, au box pour les orientations.

Sur la base des données obtenues pour ces différentes mesures, un score total de stress chronique (TCSS), adapté de Hausberger *et al.* (2012) and Henry *et al.* (2017), a été calculé pour chaque individu. Chaque cheval a été classé selon 1) le nombre de réponses agressives dirigées vers l'expérimentateur au cours des tests de relation à l'Homme, 2) le nombre de comportements stéréotypiques et anormaux répétés exprimés durant les 60 minutes d'observation, 3) le pourcentage de temps passé les oreilles en arrière en alimentation, ainsi que 4) le pourcentage de temps passé orienté vers un mur du box. Pour toutes ces variables, plus la valeur obtenue était grande, plus l'état de bien-être était altéré, et le plus le rang attribué à l'individu était haut. Les rangs obtenus pour chaque paramètre ont été

additionnés pour chaque cheval. Ainsi, plus l'état de bien-être était altéré, plus le score TCSS obtenu était important.

Plusieurs scores composites ont été calculés selon le site d'étude considéré : un considérant les trois populations réunies (TCSS 1, N=47), un regroupant tous les chevaux de population de centre équestre (TCSS_{RS}, N=37) et pour finir un score propre à chaque population (TCSS_{RSA}, TCSS_{RSB} and TCSS_{NC}).

Comme les chevaux de loisir vivaient à l'extérieur continuellement et qu'aucune position d'oreille en arrière n'a été observée lors de leur temps d'alimentation, le TCSS_{NC} a été calculé sur les paramètres comportementaux 1) et 2) uniquement. De la même manière, le TCSS attribué en considérant les trois populations ensemble (TCSS 1) a été calculé à partir des rangs obtenus pour les paramètres 1) (agressivité), 2) (stéréotypies) et 3) (oreilles arrière, ici mesuré seulement au pré) seulement puisqu'il n'a pas été possible d'évaluer le paramètre 4) (temps vers mur) pour les chevaux de loisir.

2 Résultats

Au total 560 ébrouements ont été enregistrés, et tous les individus en ont émis au moins un (de 0,75 à 12,8 par heure par individu).

2.1 Les ébrouements reflètent-ils des émotions positives immédiates ?

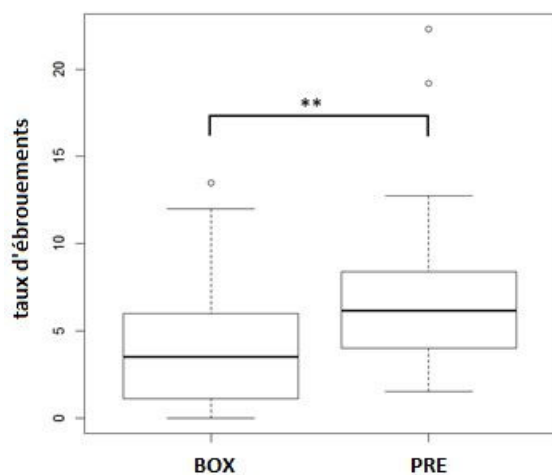
2.1.1 Preuve contextuelle

Les individus de centre équestre ont émis en moyenne $5,66 \pm 3,32$ ébrouements par heure. Les variabilités intra et inter individuelles étaient élevées (coefficient de variation : intra : CV=110,8% à 519,6%, $\mu=201,6 \pm 78,9\%$, inter : CV=59%). La variation intra-individuelle était principalement due au contexte : huit chevaux n'ont produit aucun ébrouement au box, et de manière générale tous les individus ont émis significativement plus d'ébrouements au pré qu'au box (test de Wilcoxon, N=36, Z=2,84, p=0,004) (figure I). Ainsi en ce qui concerne les populations RSA et RSB, 454 ébrouements ont été enregistrés : 189 au box et 265 au pré.

Aucun comportement « anormal » (ex : stéréotypies) n'a été observé au pré. Ces données confirment que le contexte du pré est plus positif que le contexte box pour les individus.

Figure I : Taux d'ébrouements émis selon les deux contextes différents (box et pré) par les chevaux de centre équestre.

Figure I : Snort rate produced according to the context (stall and pasture) by the riding school horses



2.1.2 Preuve comportementale et posturale

- Activité

Que ce soit au box ou au pré, les chevaux RS ont principalement émis des ébrouements en mangeant (box (foin) : 67,3% des ébrouements, pré (herbe) : 69,6% des ébrouements). Cependant certaines spécificités contextuelles semblent être apparues : les chevaux ont produit des ébrouements au cours d'observations calmes de leur environnement au box (24,5%), et en étant au pas exploratoire au pré (20,3%). Aucun n'ébrouement n'a été recueilli alors que les individus réalisaient des comportements répétitifs anormaux ou étaient agressifs.

De la même manière, les chevaux de loisir ont émis des ébrouements principalement en broutant de l'herbe (68,9%), ou en étant au pas exploratoire (20,1%). Dans certains cas, les ébrouements ont été émis juste après s'être roulé (5,4%).

- Position des oreilles

Concernant l'ensemble des individus (NC+RSA+RSB), le temps passé les oreilles en avant/sur le côté quelle que soit l'activité du cheval était en moyenne de $92,8 \pm 16,9\%$ dans un contexte extérieur (pré/paddock), alors que cette proportion était bien plus élevée au moment même de l'émission des ébrouements. En effet, $99,5 \pm 11,7\%$ des ébrouements ont été produits avec les oreilles en avant/sur le côté (test de Wilcoxon, $N=47$, $Z=3,47$, $p<0,001$). Logiquement, nous avons pu mettre en évidence que la position arrière des oreilles étaient moins exprimée lors de l'émission des ébrouements ($0,19 \pm 1,32\%$) en comparaison à une situation contrôle ($4,58 \pm 2,23\%$) au pré (test de Wilcoxon, $N=47$, $Z=2,99$, $p=0,002$).

Considérant uniquement les chevaux de centre équestre au box, le même constat a pu être établi : les individus avaient plus souvent des oreilles en avant/sur le côté lors des ébrouements que durant tout autre activité ($\mu_{\text{ébrouements}}=93,2 \pm 20,2\%$; $\mu_{\text{général}}=82,1 \pm 15,4\%$; test de Wilcoxon, $N=31$, $Z=2,76$, $p=0,005$), et moins d'oreilles en arrière que pour tout autre activité ($\mu_{\text{ébrouements}}=4,5 \pm 18,4\%$; $\mu_{\text{général}}=10,5 \pm 12,4\%$; $Z=3,18$, $p=0,001$).

Pour finir, nous avons eu l'opportunité de suivre un groupe de chevaux de loisir arrivant dans un nouveau pré plein de ressources fraîches. Les quatre individus ont produit presque jusqu'à 10 fois plus d'ébrouements par minute que dans la situation précédente (pré en fin de ressource en herbe). Bien qu'anecdotique, cette observation renforce l'idée d'un lien entre ébrouement et émotion positive (pouvant être induite par l'abondance des ressources alimentaires ou la présence d'odeurs nouvelles).

2.2 La production d'ébrouements peut-elle être modulée par l'état de bien-être ?

2.2.1 Evaluation de l'état de bien-être des chevaux

- Les trois populations réunies

Globalement, le score de condition corporelle (BCS) était compris entre 2 et 4 ($\mu=3 \pm 0,33$), avec très peu de variations entre individus et populations. 19 des 48 individus présentaient une encolure ronde alors que 29 avaient une encolure de forme creuse/plate. 21 chevaux (43,7%) ont réalisé au moins un type de comportement répétitif anormal (moyenne $5,7 \pm 10,3$ par heure) et 20 chevaux (42,5%, 18 en centre équestre) ont montré au moins une réaction agressive envers l'Homme durant les tests ($1 \pm 1,6$ comportements). 14 individus ont été vus avec une orientation vers le mur au box ($3 \pm 0,04\%$ du temps). Les individus ont passé $4,5 \pm 11,7\%$ du temps les oreilles en position arrière en broutant au pré. Au box, les chevaux RS ont été observés $22,1 \pm 24,6\%$ du temps d'alimentation avec les oreilles en arrière.

- Comparaison des populations

Il y avait davantage de chevaux avec une encolure arrondie dans les populations de loisirs que dans celles des deux centres équestres réunis (test du Chi carré, $N=47$, $df=1$, $X^2=4,88$, $p=0,027$) et davantage dans la population RSB que RSA ($X^2=4,26$, $p<0,05$).

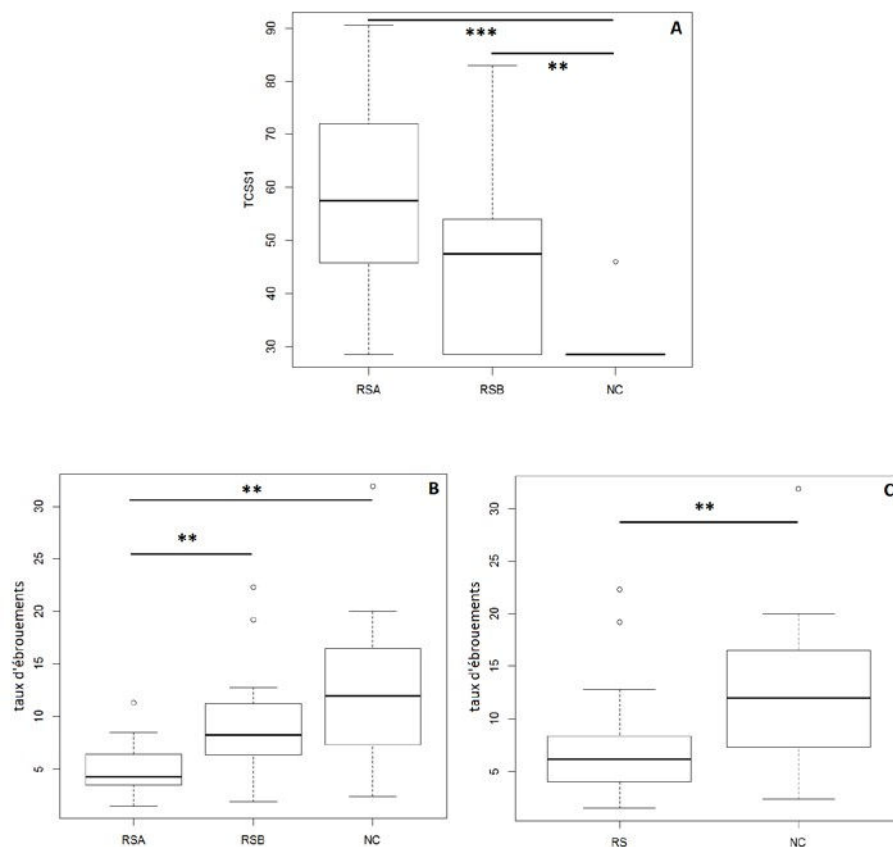
Chez les chevaux RS, dix types différents de stéréotypies ou autres comportements répétitifs anormaux ont été observés ($RS_A=63,1\%$, $RS_B=44,4\%$ des individus) avec un à cinq différents types pour chacun de ces individus. 66,6% et 31,5% des chevaux de RSA et RSB respectivement ont montré au moins une réaction agressive envers l'expérimentateur durant les tests. Enfin, les chevaux de centre équestre ont passé $5,9\pm 13,2\%$ du temps d'alimentation au pré avec les oreilles en arrière. Les chevaux de loisir n'ont exprimé aucun comportement anormal ni stéréotypie n'ont jamais été observés broutant les oreilles en arrière ($\mu=0\pm 0\%$). Seulement une réaction agressive a été dirigée envers l'observateur par un individu de la population semi-naturaliste.

Ceci résulte en différences notables au niveau du score composite de stress chronique (TCSS) avec des différences claires entre populations (test de Kruskal wallis, $N=47$, $H=21,265$, $df=2$, $p<0,0001$) : les chevaux de loisir ont obtenu un score significativement plus faible que les deux autres populations (comparaisons post hoc : NC/RSA: $p<0,0001$; NC/RSB: $p<0,001$) alors qu'aucune différence significative n'a été trouvée entre les TCSS1 obtenus pour les populations RSA et RSB ($p=0,27$) (figure IIA).

Des différences sont cependant apparues entre les chevaux des deux centres équestres pour certains indicateurs : les chevaux de RSA avaient plus souvent les oreilles en arrière en alimentation au box ($31,9\pm 28\%$) que les individus de RSB ($10,6\pm 14,1\%$) (test de Mann Whitney, $N_1=19$, $N_2=17$, $W = 257$, $p=0,008$). Par ailleurs en considérant uniquement les populations de centre équestre, le score total de stress chronique était plus élevé pour les chevaux de RSA que pour ceux de RSB ($N_1=19$, $N_2=17$, $W=238$, $p=0,015$).

Figure II : (A) Moyenne des scores TCSS1 obtenus par les individus selon la population d'origine. (B) Taux d'ébrouements observés au pré selon la population d'origine. (C) Taux d'ébrouements observés selon le type de population, chevaux RS et NC.

Figure II: (A) The average of the TCSS 1 scores obtained by individuals according to the population of origin. (B) The snorting rate observed in pasture according to the population of origin. (C) The snorting rate observed according to the type of the population, RS horses and NC horses.



2.2.2 Production d'ébrouement et état de bien-être

- Les trois populations réunies

Si état corporel et taux d'ébrouements ne sont pas corrélés (corrélation de Spearman, $N=47$, $r=-0,039$, $p=0,79$), ce taux tend à varier selon la forme d'encolure. Ainsi, les chevaux présentant une encolure arrondie ont émis presque deux fois plus d'ébrouements ($11,24 \pm 3,58$) que les individus à l'encolure creuse/plate ($\mu=6,60 \pm 8,27$) (test de Mann Whitney, $N_{arrondie}=18$, $N_{creuse/plate}=29$, $W=346$, $p=0,06$).

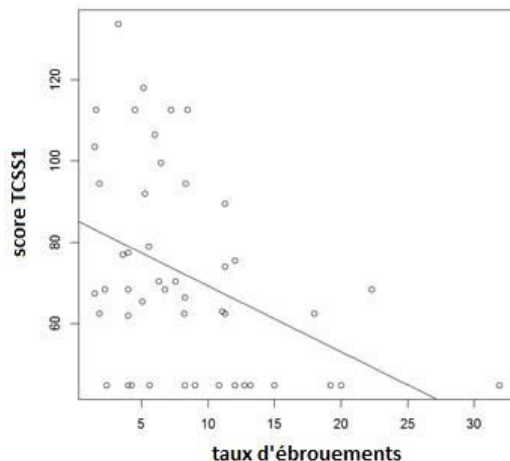
Le taux d'ébrouements émis au pré (contexte commun aux trois populations) varie clairement en fonction de l'état de bien-être des chevaux, ce taux étant négativement corrélé au score de stress TCSS1 des individus (corrélation de Spearman, $N=47$, $r=-0,39$, $p=0,005$) (figure III). Ainsi, plus les chevaux émettaient d'ébrouements au pré, moins leur état de bien-être était altéré. Plus particulièrement, nous avons pu mettre en évidence que ce taux d'ébrouement émis au pré était négativement corrélé à l'occurrence des comportements agressifs dirigés envers l'homme au cours des tests ($N=47$, $r=-0,33$, $p=0,02$) et avec l'occurrence des stéréotypies observées ($r=-0,32$, $p=0,02$) : plus les sujets ont produit des ébrouements au pré, moins ils étaient agressifs envers l'homme et moins ils ont exprimé de comportements anormaux quand ils étaient au box.

- Comparaison entre populations

Les différences de taux d'ébrouements produits entre les deux centres équestres sont confirmées quand les deux contextes (box/pré) sont considérés (test U de Mann-Whitney, $N_{RSA}=19$, $N_{RSB}=17$, $W=86,5$, $p=0,01$), mais pas quand seul le contexte box est considéré ($N_{RSA}=19$, $N_{RSB}=18$, $W=144,5$, $p=0,42$).

Figure III : Corrélation entre les scores TCSS1 obtenus et le taux d'ébrouement mesuré au pré pour l'ensemble des 47 individus.

Figure III: Correlation between the TCSS1 scores and the snort rate recorded in pasture for the whole set of 47 individuals.



Noter la variabilité plus forte dans les taux pour la population NC (cf plus loin) Note the higher individual variations in the NC population.

Dans le contexte du « pré », les taux d'ébrouements différaient entre les trois populations (test de Kruskal

Wallis, $N_{NC}=11$, $N_{RSA}=19$, $N_{RSB}=17$, $\chi^2=12,851$, $df=2$, $p=0,001$). Le taux d'ébrouement en fait suit un gradient opposé à celui du score de stress chronique avec davantage d'ébrouements chez les chevaux de loisir et RSB que les chevaux du centre RSA (fig 3B $N_{RSA}=19$, $N_{RSB}=17$, $W=72$, $p=0,004$).

De fait, la population semi-naturaliste a produit quasiment deux fois plus d'ébrouements ($\mu=12,8\pm 8,3$) que les deux populations de centre équestre ($\mu=7,0\pm 4,6$) (test U de Mann-Whitney, $N_{NC}=11$, $N_{RS}=36$, $W=294$, $p=0,01$) (figure IIC). Aucune différence n'a été trouvée en fonction du sexe (test U de Mann-Whitney, $N_F=18$, $N_M=29$, $W=292,5$, $p=0,49$), ou de l'âge (Kruskal Wallis test, $N_1=6$, $N_2=24$, $N_3=16$, $X^2=3,2328$, $df=2$, $p=0,19$). La variabilité intra-individuelle était plus faible chez les individus de loisir que pour les deux populations de chevaux de centre équestre (CV_{NC} intra : 70,1% à 180,4%, $\mu=144,3\pm 32,5\%$) (test de Mann Whitney, $N_{NC}=11$, $N_{RS}=37$, $W=108$, $p=0,01$), indiquant un état plus stable apparent chez ces chevaux vivant dans un même environnement (au pré toute l'année) au fil des jours. A l'inverse, la variabilité interindividuelle au pré était plus faible chez les deux populations de centre équestre comparée aux chevaux de loisir ($CV_{NC}=65\%$, $CV_{RSA}=54,2\%$, $CV_{RSB}=57,2\%$). Ce dernier constat pourrait correspondre à des différences entre groupes de chevaux de loisir (ressources différentes par ex), mais la taille des groupes était trop faible pour pouvoir le tester.

3 Discussion

Cette étude, qui avait pour but de tester l'ébrouement comme un indicateur potentiel d'émotion positive, a révélé que la production d'ébrouements 1) est associée à des contextes et à des états plus positifs, 2) est moins fréquente chez les chevaux montrant un état de bien-être altéré.

Jusqu'à présent, l'ébrouement était considéré comme une simple expiration forcée ayant une fonction hygiénique de dégagement des canaux nasaux (Kiley, 1972). Les résultats de notre étude suggèrent que l'ébrouement pourrait également constituer une expression émotionnelle. En effet nous avons démontré que les ébrouements étaient clairement associés avec une humeur globalement positive des individus, principalement lors de situations (e.g. au pré), et dans une posture (oreilles en position avant/sur le côté (Waring, 2003)) positives. Grâce à des tests de préférences, Søndergaard *et al* (2011) ont démontré que les chevaux étaient davantage motivés à rester au pré plutôt qu'au box, particulièrement en présence de partenaires sociaux. Les ébrouements ont été également plus

produits en alimentation (herbe ou foin), ou durant une observation calme de l'environnement, deux activités qui reflètent des états calmes (Waring, 2003). Curieusement, la production d'ébrouements était plus variable d'un individu à l'autre chez les chevaux de loisir. Il n'a pas été possible de tester des différences entre les différents groupes mais, tous n'étant pas dans la même prairie, il est possible que cette variabilité soit liée à la disponibilité en herbe au moment des observations par exemple. Si, comme cette étude le suggère, les ébrouements reflètent des émotions positives, il s'agit d'états transitoires qui peuvent être influencés par des changements rapides, météorologiques par exemple.

Néanmoins, nos résultats montrent un lien entre l'état chronique de bien-être (mesuré indépendamment) et la production des ébrouements. Comme cela a déjà été démontré, les restrictions induites par les conditions domestiques, qu'elles soient spatiales, alimentaires ou sociales, jouent un rôle actif dans la détermination de l'état de bien-être des chevaux (e.g. (Lesimple *et al.*, 2016)). C'est aussi le cas des conditions de travail (e.g. (Lesimple *et al.*, 2016b)). Ici nous avons mis en évidence un gradient de bien-être allant des chevaux de loisir vivant au pré en groupes stables, à des chevaux vivant en centres équestres ayant des pratiques assez restrictives d'hébergement où les individus sortent occasionnellement au pré, en groupes instables. En particulier, le taux d'ébrouements était plus faible chez les chevaux passant du temps orientés vers le mur et les chevaux plus agressifs. Les chevaux avec une encolure plus arrondie (hors travail), ayant moins de problèmes dorsaux, ont émis plus d'ébrouements. Cependant, la production d'ébrouements semble bien être le reflet d'un état émotionnel transitoire, et non un indicateur de bien-être per se : même des chevaux en relatif état de mal-être peuvent en produire quand la situation est plus positive (pré versus box) (cf aussi la variabilité chez les chevaux de loisirs malgré leur qualité de bien-être assez homogène); en revanche le lien entre bien-être et production d'ébrouements n'apparaît pas quand les chevaux sont enregistrés en box. La situation de box individuel est connue pour être particulièrement négative pour les chevaux (e.g. (Fureix *et al.*, 2010)) et peut par conséquent priver partiellement les individus de ressentir des émotions positives. En revanche au pré les chevaux peuvent potentiellement ressentir davantage ces émotions positives, mais ceci est probablement modulé par leur état de bien-être. Henry *et al* (2017) ont déjà montré que les conditions de vie et l'état chronique de bien-être du cheval pouvaient influencer son « jugement » d'une situation. Ainsi, nous proposons ici que les ébrouements soient une forme d'expression d'émotions positives calmes, par exemple quand la situation s'améliore : passage du box au pré, changement de pré pour de meilleures ressources.

Les mécanismes en jeu restent encore à découvrir. Des études utilisant des tâches de biais de jugement suggèrent un « soulagement », chez les animaux précédemment gardés dans des conditions environnementales restreintes ou en isolement (chevaux : Löckener *et al.*, 2016), au moment où ils sont mis en situations plus favorables. Les ébrouements pourraient refléter un relâchement induisant une expiration plus prolongée, faisant vibrer les naseaux. Des recherches restent à mener dans ce sens. Si notre étude ne permet pas d'écarter totalement la fonction sanitaire de l'ébrouement, puisque nous n'avons pas fait de mesures de poussière par exemple, le fait qu'il y en ait plus au pré (moins poussiéreux globalement) et qu'il y ait un lien avec des paramètres de bien-être, suggère fortement que les ébrouements expriment bien plus qu'un simple « nettoyage des naseaux ». Enfin, il est à noter que toutes ces observations concernent des situations hors travail et nous ne pouvons donc pas à ce stade savoir si les ébrouements pourraient permettre d'évaluer comment le cheval perçoit différentes situations de travail.

En conclusion, hors contexte de travail et bien sûr problème respiratoire, les ébrouements pourraient constituer un outil extrêmement utile pour les utilisateurs qui, s'ils y prêtent attention, pourrait leur permettre d'identifier les situations particulièrement appréciées par leur cheval. Cette étude apporte aussi un point essentiel : la recherche d'indicateurs d'émotions positives n'est possible que si l'animal

en ressent ! Chercher de tels indicateurs dans des situations perçues négativement par l'animal (ex : ici le box individuel, conditions d'élevage intensif pour d'autres espèces) n'est clairement pas optimal. Ceci explique certainement en grande partie pourquoi les évaluations fiables de bien-être en milieu domestique s'appuient sur des indicateurs de mal-être. Les avancées dans le domaine des mesures d'émotions positives pourraient aller de pair avec les améliorations des conditions de vie des animaux domestiques.

Remerciements

Les auteurs remercient les dirigeants et employés des centres équestres ainsi que les propriétaires des chevaux de loisirs, ainsi qu'à H. Amat, pour nous avoir permis d'observer les chevaux, tout comme pour leur aide sur place. Cette étude a bénéficié d'un financement de l'IFCE, du fonds Eperon et de l'université de Rennes1.

Références

- Altmann, J, 1974. *Observational Study of Behavior: Sampling Methods*. Behaviour. Brill, 227–267.
- Arnaud, G., Dubroeuq, H. and Rivot, D, 1997. *Notation de l'état corporel des chevaux de selle et de sport*. Edited by P. Inra, Institut du cheval - Institut de l'Élevage.
- Ashley, F. H., Waterman-Pearson, A. E. and Whay, H. R, 2005. Behavioural assessment of pain in horses and donkeys: application to clinical practice and future studies, *Equine Veterinary Journal*. Blackwell Publishing Ltd 37(6), 565–575.
- Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M.B., Moe, R.O., Spruijt, B., Keeling, L.J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I., Aubert, A., 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare, *Physiology & Behavior*. Elsevier 92(3), 375–397.
- Fureix, C., Gorecka-Bruzda, A., Gautier, E., Hausberger, M., 2011. Cooccurrence of Yawning and Stereotypic Behaviour in Horses (*Equus caballus*), *ISRN Zoology*, 10.
- Fureix, C., Jégo, P., Coste, C., Hausberger, M., 2010. Indicateurs de bien-être/mal-être chez le cheval : une synthèse. 36ème Journée de la Recherche Equine. IFCE, Paris, 111–112.
- Hausberger, M., Fureix, C. and Lesimple, C. 2016a. Detecting horses sickness: In search of visible signs, *Applied Animal Behaviour Science*. Elsevier 175, 41–49.
- Hausberger, M., Rochais, C., Henry, S., Stomp, M., Lesimple, C., Cousillas, H., 2016b. Quand le cheval va bien : état des lieux sur les indicateurs de bien-être. 42ème Journée de la Recherche Equine. IFCE, Paris, 69– 78.
- Hausberger, M., Fureix, C., Bourjade, M., Wessel-Robert, S., Richard-Yris, M.-A., 2012. On the significance of adult play: what does social play tell us about adult horse welfare? *Naturwissenschaften* 99(4), 291-302
- Henry, S., Fureix, C., Rowberry, R., Bateson, M., Hausberger, M., 2017. Do horses with poor welfare show “pessimistic” cognitive biases?, *The Science of Nature*. Springer Berlin Heidelberg, 104(1–2), 8.
- Kiley, M. 1972. *The Vocalizations of Ungulates, their Causation and Function*, *Zeitschrift für Tierpsychologie*. Blackwell Publishing Ltd 31(2), 171–222.
- Lesimple, C., Poissonnet, A. and Hausberger, M. 2016a. How to keep your horse safe? An epidemiological study about management practices, *Applied Animal Behaviour Science*. Elsevier 181, 105–114.

- Lesimple, C., Fureix, C., Aubé, L., Hausberger, M., 2016b. Detecting and Measuring Back Disorders in Nonverbal Individuals: The Example of Domestic Horses, *ABC* 3(3), 159–179.
- Lesimple, C., Fureix, C., De Margerie, E., Sénèque, E., Menguy, H., Hausberger, M., 2012. Towards a Postural Indicator of Back Pain in Horses (*Equus caballus*), *PLoS ONE*. Edited by G. Chapouthier. Public Library of Science 7(9), p. e44604.
- Löckener, S., Reese, S., Erhard, M., Wöhr, A.-C., 2016. Pasturing in herds after housing in horseboxes induces a positive cognitive bias in horses, *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. Elsevier, 11, 50–55.
- Montenegro, O. L. 1998. The behavior of Lowland Tapir (*Tapirus Terrestris*) at a natural mineral lick in the peruvian amazon.
- Peters, G. 2002. Purring and similar vocalizations in mammals, *Mammal Review*. Blackwell Science, Ltd 32(4), 245–271.
- Peters, S. M., Bleijenberg, E.H., van Dierendonck, M.C., van der Harst, J.E., Spruijt, B.M., 2012. Characterization of anticipatory behaviour in domesticated horses (*Equus caballus*), *Applied Animal Behaviour Science*. Elsevier 138(1–2), pp. 60–69.
- Policht, R., Tomasova, K., Holeckova, D., Frynta, D., 2008. The vocal reertoire in Northern white rhinoceros *Ceratotherium simum cottoni* as recorded in the last surviving herd, *Bioacoustics*. Taylor & Francis Group 18(1), 69–96.
- Rochais, C., Fureix, C., Lesimple, C., Hausberger, M., 2016. Lower attention to daily environment: a novel cue for detecting chronic horses back pain?, *Scientific reports*. Nature Publishing Group 6, 20117.
- Søndergaard, E., Bak Jensen, M. and Nicol, C. J. 2011. Motivation for social contact in horses measured by operant conditioning, *Applied Animal Behaviour Science* 132, 131–137.
- Waring, G. H. 2003. *Horse Behavior*. (2nd ed.) Noyes Publications/William Andrew Publishing, Norwich, New York

ANNEXE 2

Manuscrit en révision pour publication dans *Frontiers in veterinary science*

Manuscript under revisions to Frontiers in veterinary science

Cognition and welfare in horses: a review

Cognition and welfare in horses: a review

Martine HAUSBERGER^{1, 2}, Carol Sankey³, Mathilde Stomp^{1, 2*}, Sophie Brajon⁴, Christophe Lunel², Séverine Henry^{1, 2}

¹University of Rennes 1, France,

²University of Rennes 1, France,

³Université Paris Descartes, France,

⁴Département des Sciences Animales, Laval University, Canada

Submitted to Journal:

Frontiers in Veterinary Science

Specialty Section:

Animal Behavior and Welfare

Article type:

Review Article

Manuscript ID:

393802

Received on:

04 May 2018

Revised on:

11 Sep 2018

Frontiers website link:

www.frontiersin.org

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest

Author contribution statement

MH and SH designed the manuscript, SB, CS, CL & MS analysed the new data, all authors contributed to the manuscript.

Keywords

Cognition, welfare, Horses, Emotions, learning and memory, Attention, Human-horse relationship, lateralization

Abstract

Word count: 175

Numerous studies have demonstrated the large memory, categorization, and generalization abilities of horses, as well as skill in social cognition, including the ability to process subtle signals. While these abilities have evolved to respond to the constraints of natural conditions (social life, varied types of large habitats), how horse cognition is constrained, modified, or potentially expanded in domestic conditions has not yet been clearly reviewed. On one hand, in most domestic situations, horses live in conditions of social, feeding, and spatial restrictions that lead to varied expressions of altered welfare that may influence learning and cognition. On the other hand, from an early age, horses may develop a particular (often individualized) relationship with humans that stimulate them to build representations of familiar persons in establishing generalized interspecific relationships. Considering that education and training refer to learning skills, the interrelation between cognition and welfare so the human-horse relationship is especially important to study. This paper provides a review of the existing literature in an attempt to better understand the reciprocal relationships between cognition, emotions and welfare.

1 **Cognition and welfare in horses: a review**

2

3 M. Hausberger¹, C. Sankey², M. Stomp*³, S. Brajon⁴, C. Lunel⁵, S. Henry³

4

5 1 CNRS, Laboratoire d’Ethologie animale et humaine, UMR6552, Université de Rennes, Université de
6 Caen-Normandie, Campus de Beaulieu, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16 **ABSTRACT**

17 Numerous studies have demonstrated the large memory, categorization, and generalization abilities
18 of horses, as well as skill in social cognition, including the ability to process subtle signals. While these
19 abilities have evolved to respond to the constraints of natural conditions (social life, varied types of
20 large habitats), how horse cognition is constrained, modified, or potentially expanded in domestic
21 conditions has not yet been clearly reviewed. On one hand, in most domestic situations, horses live in
22 conditions of social, feeding, and spatial restrictions that lead to varied expressions of altered welfare
23 that may influence learning and cognition. On the other hand, from an early age, horses may develop
24 a particular (often individualized) relationship with humans that stimulate them to build
25 representations of familiar persons in establishing generalized interspecific relationships. Considering
26 that education and training refer to learning skills, the interrelation between cognition and welfare so
27 the human-horse relationship is especially important to study. This paper provides a review of the
28 existing literature in an attempt to better understand the reciprocal relationships between cognition,
29 emotions and welfare.

30 INTRODUCTION

31 Cognition, “the way animals perceive, process, acquire, store and act upon information coming from
32 their environment” (Shettleworth, 1998), is particularly important to understand in the context of the
33 domestic horse as a sport or leisure partner. In this regard, numerous detailed reviews on horse
34 perception (Hausberger and Henry, 2018; Leblanc, 2010; Saslow, 2002), learning (Brubaker and Udell,
35 2016; Murphy and Arkins, 2007; Nicol, 2002), and overall cognitive abilities (e.g. Krueger et al., 2017;
36 Leblanc, 2010), have been presented.

37 During the course of horse cephalisation evolution there has been an increased of brain size
38 independent from that of body size, as well as differentiation of important areas for cognition, e.g.
39 cortex, striatum (Röhrs and Ebinger, 1993). Perceptual and cognitive abilities reflect the challenges
40 species have faced during the evolutionary process and horses share many characteristics with other
41 domestic and non-domestic species (Krueger et al., 2017; Roitblat and von Fersen, 1992; von Uexküll,
42 1965). Horses, like sheep, are permanent steppe grazers and have to deal with sparse and varied food;
43 they prefer spatial over visual cues for finding food, they have *taste aversions* which prevent them from
44 being poisoned, and they are able to *associate* the characteristics of *food with post-ingestive*
45 *consequences* (although horses can do so only if the association is within 30 minutes after ingestion)
46 (Cairns et al., 2002; Dumont and Boissy, 1999; Hothersall et al., 2010; Houpt et al., 1990; Pfister et al.,
47 2002). On large home ranges (up to 200 km²), where different areas provide different resources (food,
48 shelter, rolling), they learn spatial tasks well, although they may not always succeed in detours (e.g.
49 Baragli et al., 2011; Kabadayi et al., 2018; Waring, 2003; Wolff and Hausberger, 1996). Like many other
50 species, e.g. pigeons, rats, cognitive studies in horses have revealed that they are able to discriminate
51 (Hanggi and Ingersoll, 2009), and categorize visual stimuli, e.g. shape (Hanggi, 1999), generalize to new
52 exemplars, e.g. (Hanggi, 2005), evaluate quantities (Uller and Lewis, 2009), and they might even have
53 the ability to form concepts such as same-different or the concept of relative size (Hanggi, 2003). A
54 remarkable and well-known feature of horse cognitive ability is long term-memory. Several studies
55 have demonstrated that horses are able to repeat a task that has been learnt one week (spatial task,
56 Marinier and Alexander, 1994), one month (instrumental and detour tasks, Wolff and Hausberger,
57 1996), five to 12 months (Gardner, 1933; Henry et al., 2005; Sankey et al., 2010b, 2010c), 22 months
58 (instrumental and avoidance tasks, Valenchon et al., 2013b), and up to six to 10 years later
59 (discrimination, categorization, : Hanggi and Ingersoll, 2009), without error. Interestingly, there does
60 not seem to be a “general learning ability” as no correlation was found between different types of
61 learning: instrumental versus spatial (Le Scolan et al., 1997; Wolff and Hausberger, 1996), avoidance
62 versus instrumental (Lansade and Simon, 2010; Visser et al., 2003), or discrimination reversal learning
63 versus performance task (Sappington et al., 1997). Capacities for “higher” cognitive skills such as self-
64 recognition (Baragli et al., 2017a) or imitative learning (even mere observational learning) (e.g. Ahrendt
65 et al., 2012; Baker and Crawford, 1986; Clarke et al., 1996; Lindberg et al., 1999; Rørvang et al., 2015;
66 but Krueger et al., 2014) have not been clearly demonstrated in horses.

67 The evolution of sociality has been associated with that of social cognition, i.e. special skills that
68 maintain cohesion and avoid costly conflict (Aureli and de Waal, 2000). Sociality is based on
69 interattraction and distress when isolated (isolation syndrome) (e.g. Grassé, 1963; Lihoreau et al.,
70 2009), but differs from gregariousness by involving reciprocal communication and influences between
71 the individuals constituting the group (e.g. Grassé, 1963; Hinde, 1976). Hinde (1979) has described the
72 different levels of society from individual characteristics to the establishment of relationships: social
73 organization is based on this network of relationships, but varies also between species which may differ
74 in terms of “social disposition” (Mason, 1978). Thus different macaque species show different types of
75 social organizations, from tolerant to “despotic” (e.g. Thierry et al., 2004). In natural conditions, horses,

76 like most ungulates, live in stable groups with a well defined but little expressed (defined by dispersed
77 resources) hierarchy and clear social preferences that are mostly expressed through spatial proximity,
78 a feature shared with many species (Feh, 2005; Hausberger et al., 1995; Mason, 1978). Social
79 organization is thus based on social cognition, and it is considered that the “social brain” and the
80 “cognitive brain” are interrelated (Kuhl, 2003). Thus, like most tested social vertebrates, horses are
81 able to use unimodal and multimodal discrimination and recognition of familiar group members to
82 detect their attentional state but also possibly to withdraw information from dominant conspecifics
83 (*e.g.* Andrieu et al., 2016; Lemasson et al., 2009; Wathan and McComb, 2014). Descriptions have also
84 been given of more complex social skills such as interventions, where one individual tries to regain
85 attention from preferred partners that are interacting with a third party (VanDierendonck et al., 2009)
86 or post-conflict reunion, where animals display positive interactions towards animals previously
87 engaged in agonistic interactions (Cozzi et al.,
88 2010). Acoustic signals encode information on the sender’s identity, physical characteristics,
89 familiarity, sex and even emotional or fertility status (Briefer et al., 2015; Lemasson et al., 2009, 2015a,
90 2015b; Stomp et al., 2018). This knowledge of both the identity and social status of different group
91 members allows stable groups to spend little energy in useless agonistic encounters (*e.g.* Fureix et al.,
92 2012a). These social cognitive abilities, however, require some “training” which means horses, like
93 elephants (Slotow et al., 2000), also have to learn the social rules, mostly at a young age, through adult
94 modelling, *e.g.* Bourjade et al., 2009). Receivers clearly decode this information and different studies
95 have revealed that the corresponding brain processes are lateralized, horses showing a left visual bias
96 (right hemisphere) for agonistic encounters (Austin and Rogers, 2014) and a right ears orientation bias
97 (left hemisphere) for familiar whinnies (Basile et al., 2009). Horses thus follow the evolutionary rules
98 described in the “valence theory” that reveals that most animals (and humans) show a right
99 hemisphere bias to process fear-inducing and threatening stimuli and a left hemisphere bias to process
100 familiar stimuli; this differential processing being related to different attentional processes in both
101 hemispheres (Andrew and Rogers, 2002; Davidson, 1992). It has been proposed that perceptual
102 lateralization was especially important for species that have to simultaneously feed and check their
103 environment for predators (Vallortigara and Rogers, 2005). The visual system of the horse with its
104 panoramic field (with two large monocular fields and a restricted frontal binocular field of 40-60°) is
105 similarly well adapted to precisely detect food items on the ground. Brain decussation of the optic
106 fibres is almost complete in horses, with up to 80-90% of the fibres crossing in the corpus callosum
107 (Herron et al., 1978). Flight is the most frequent response to predation although stallions and other
108 adults may face and attack predators and groups of adults can put themselves in a circle and defend
109 themselves by kicking (Boyd and Keiper, 2005) and attack them (Waring, 2003). Aggression is therefore
110 another possible response to predators.

111 These rapid responses to threat reflect horse propensity to react with high short-lived emotions to
112 fear-inducing signals. Fear induces postural (vigilance, tail raised), locomotory (trot, canter, prancing),
113 and sometimes vocal (snoring, blows) changes that can be detected by group members (Kiley-
114 Worthington, 1976; Waring, 2003). Social separation (even merely visual) leads to higher locomotory
115 components (searching for the partner) and loud whinnies, resulting in reuniting (Waring, 2003).

116 While humans did hunt horses in the early ages, it is difficult to believe that nowadays domestic horses
117 still perceive them as predators. Humans are often present from the earlier stages of domestic horse
118 life and foals may elicit investigative behaviours and interest if its mother has a good relationship with
119 humans (Henry et al., 2005). Horses establish relationships with humans that are built over time like
120 intraspecific relationships (Hausberger et al., 2008), or interactions creating positive or negative
121 memories (Waiblinger et al., 2006). They are able to discriminate human attentional (Proops and
122 McComb, 2010; Sankey et al., 2011b) or emotional (on the basis of facial expressions: Smith et al.,

123 2016) states, to build multisensory representations of familiar humans (Lampe and Andre, 2012;
124 Proops and McComb, 2010; Sankey et al., 2011a). They can also respond to human signals such as
125 pointing gestures (Krueger et al., 2011; Maros et al., 2008) although somewhat less well than dogs.
126 They can even use referential gestures to manipulate the attention of a human recipient to obtain an
127 unreachable resource (Malavasi and Huber, 2016). Whether domestication and/or experience with
128 humans underpin these abilities, like for many other species, remains a challenging issue.

129 Selective breeding may play a role in human-horse relationships as studies have shown differences in
130 the reactions to humans (Hausberger and Muller, 2002) or in learning abilities between breeds
131 (Budzynski et al., 1992; Lindberg et al., 1999; Mader and Price, 1980) or offspring of different sires
132 (Wolff and Hausberger, 1996). In a first attempt to evaluate heritability, Hausberger et al (2007) used
133 the data of Hausberger et al (2004) on 703 horses from 16 breeds to calculate coefficients of
134 heritability: they found the same coefficients for instrumental learning (opening a chest to find food)
135 and for emotionality traits such as gregariousness or reactions to a novel object. When considering
136 only the 246 French Saddlebreds, the coefficient was of 0.48 for learning and 0.39 for the arena test
137 (regariousness) and 0.41 for the reactions to the novel object. Sex differences have rarely been found
138 but Wolff & Hausberger (1996) observed that young females performed better at a detour task than
139 young males, which they attributed to the more frequent movements initiated by females in natural
140 groups. Using the same test, Le Scolan et al. (1997) found better performances in adult riding school
141 horses than in younger unbroken animals still in their breeding farm. There is a confounding factor
142 though, since age and training can both influence cognitive abilities (see further). Individual behavioral
143 differences are indeed frequent and temperament, as an ensemble of individual characteristics with a
144 relative temporal and situational stability, is another influential factor on cognition emotionality has
145 been shown to influence learning and memory (Goldsmith et al., 1987, see further in the review). Thus,
146 different cognitive strategies may be observed in individual detour solving tasks (Baragli et al., 2017b).

147 Emotions, as “intense affective responses” (Dantzer, 1988) are short lived but the repetition of
148 negative emotions is generally considered as a source of compromised welfare. Emotions and welfare
149 result from a subjective perception of the situation based on individual intrinsic characteristics, e.g.
150 temperament, (Bates, 1989)], as well as experience; cognition may thus influence the perceived state
151 of welfare. For example, early experiences such as early handling or weaning, and whether animals
152 may be “actors” of their development may have lasting consequences on emotionality and welfare
153 (Brajon et al., 2015; Henry et al., 2006; Latham and Mason, 2008; Waters et al., 2002). On the other
154 hand, durable affective states are known to induce cognitive biases in the way individuals perceive the
155 current situation; welfare therefore influences cognitive processes (Mendl et al., 2010). The welfare
156 issue is very important in horses. Most domestic horses live in restricted spatial (e.g. (Bachmann et al.,
157 2003)), feeding (e.g. McGreevy et al., 1995), social (e.g. (Visser et al., 2008)) and work conditions that
158 may impair their well being (e.g.(Lesimple et al., 2010)), resulting in the emergence of abnormal
159 behaviours (e.g. stereotypies), depression-like syndromes (Burn et al., 2010; Fureix et al., 2015; Hall et
160 al., 2008; Pritchard et al., 2005), back problems (Fureix et al., 2010; Jeffcott, 1979; review in Lesimple
161 et al., 2016), abnormal postures (Fureix et al., 2011b; Lesimple et al., 2012a), or orientations
162 (Hausberger et al., 2016). Welfare may also be impaired when owners or trainers over- (may believe
163 the horse is trying to deceive them) or under- (consider them as stupid animals) estimate their
164 cognitive abilities (e.g. DeAraugo et al., 2014).

165 The aim of this review is to provide an overview of the existing scientific literature on cognition,
166 emotions and welfare of domestic horses and how these three areas are interrelated. In an effort to
167 avoid any confusion, a first part is dedicated to the definition of the terms used all along the review
168 and related to the above mentioned topics. Then, we address how both emotions and especially

169 welfare may affect cognitive processes such as learning, memory and attention in domestic horses and
170 impact the way they perceive their environment and in particular humans and training (work). We have
171 added some considerations on how the study of the cognitive abilities of horses may help find practical
172 ways to promote positive emotions and a better welfare state under domestic conditions. All these
173 aspects are also considered in a comparative way and new perspectives about evolutionary processes
174 are proposed.

175

176 **TERMINOLOGY**

177 The use of certain terms, that are not always consensual, are clarified below:

178 **1) Emotions, stress, welfare**

179 - Emotion/emotionality

180 The term emotion arises from latin "*ex movere*": "going out" of the normal state. The existence of
181 emotions is described from antiquity (*e.g.* Aristotle cited in Konstan, 2006) and formalized by Darwin
182 (1872) in his book of 1872 where he proposes that animal and human emotions form a continuum.
183 There have been different definitions of emotions (Boissy, 1995; Dantzer, 1988;

184 Panksepp, 2005). Whereas there is not a general definition, an emotion can be defined as "an intense
185 but short-lived affective response to an event, which is associated with specific body changes.
186 Emotions refer to processes, which are likely to have evolved from basic mechanisms that gave the
187 animals the ability to avoid harm/punishment or to seek valuable resources/reward" (Boissy et al.,
188 2007; Dantzer, 1988; Désiré et al., 2002). Negative emotions such as fear, anger, frustration, or social
189 stress can be induced by threat, aggression, loss of social partner or difficulties to reach a resource
190 (Désiré et al., 2002; Fureix et al., 2012b). Alternatively, positive emotions, such as pleasure or
191 happiness can be induced by the reception of favoured items and may differ between species, such as
192 food, social partner (Boissy et al., 2007).

193 Emotionality, also called emotional reactivity, is the propensity of individuals to react to acute
194 challenging situations as those mentioned above with high behavioural reactions (Boissy, 1995)
195 associated with sharp physiological changes (*e.g.* increase in heart rate or cortisol (Loijens et al., 2002;
196 Stewart et al., 2003; Takai et al., 2004).

197 - Mood

198 Contrary to acute emotional states, moods are long lasting and detached from any immediate
199 triggering stimulus. Indeed, they occur in the absence of, and without being directed at, any particular
200 object. However, they appear as an integrative function of the organism's acute emotional state over
201 time (Nettle and Bateson, 2012; Russell, 2003). Moods include longer term states of 'happiness' or
202 'sadness' and, in their more extreme forms, states such as chronic anxiety or depression. They can be
203 conceptualized as the background core affect state that the individual will revert to when specific
204 emotion-inducing events are absent (Mendl et al., 2010).

205 Positive or negative affective states lead to cognitive biases. Affective states are recognized as
206 multifaceted, comprising of subjective, behavioural, physiological and cognitive components (*e.g.* Paul
207 et al., 2005). Cognitive measures, in contrast, are particularly suitable for detecting the valence of
208 affective states, and have therefore been increasingly used in the last decade to measure affective

209 state in animals. There is a large body of evidence in human studies that the background affective state
210 can influence a number of cognitive processes of individuals, resulting in biases in information
211 processing including attention, memory and judgement (Paul et al., 2005). For example, anxious people
212 bias their attention towards threatening stimuli and interpret ambiguous information more negatively
213 than people in a more positive affective state
214 (Macleod et al., 1986). These phenomena are called “cognitive biases”. Based on human studies, it has
215 thus been suggested that affective state in animals could potentially be measured through the use of
216 cognitive bias testing and in particular judgement bias testing (Paul et al., 2005). Cognitive biases have
217 been argued to be central to the evolutionary function of moods, and it is therefore reasonable to
218 expect them to be present across species (Nettle and Bateson, 2012).

219 - Stress

220 The term “stress” has been used in so many different contexts that it is difficult to provide a
221 unified definition. All agree though that stress leads to the activation of two different systems of
222 physiological responses that are highly conserved among vertebrates (de Kloet et al., 2005). The first,
223 typically triggered by acute short-term stress, is the activation of the sympathetic axis of the autonomic
224 nervous system (ANS) (e.g. increase in adrenaline and noradrenaline heart rate). The second
225 corresponds to the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis (e.g. increase in cortisol and
226 corticosterone).

227 From an adaptive point of view, the stress-related processes are adaptive since stress,
228 associated with negative emotions like fear, leads the organisms to avoid threat and ensure survival
229 (Korte et al., 2007; Selye, 1936). A certain level of stress is necessary as it induces focused attention,
230 improves memory and helps in decision-making (Joels et al., 2006).

231 In the present review, we will use the term stress as “the experience of an endogenous or
232 exogenous challenge that disrupt homeostasis and stressor as a threatening stimulus that causes
233 stress” (Toates, 1995).

234 - Welfare

235 Prolonged activation of the stress system results in what is called chronic stress (different from
236 acute responses to stress as mentioned above) causes harm to the organisms, such as alterations of
237 the immune system or behavioural disorders. The application of allostatic mechanisms to the animal
238 welfare concept has been proposed recently to modify previous ideas related to homeostatic
239 mechanisms of the stress response alone (Korte et al., 2007). According to Korte et al. (Korte et al.,
240 2007), no constancy, but capacity for changes is primordial for animal welfare as it actually help
241 organisms to anticipate and respond to challenges and thus, to adapt to their environment.

242 The allostatic overload that arises when the stressor is too acute or prolonged undoubtedly
243 alters welfare. For instance, it has been proposed that chronic confrontations with repeated welfare-
244 related stressors in horses involve such an allostatic overload that there is a change in the physiological
245 systems that normally respond to stressors, which may be reflected by low cortisol levels, or
246 unresponsiveness (i.e. apathy) (Pawluski et al., 2017).

247 There have been many definitions of welfare. The more classical definitions mention welfare as an
248 internal physiological balance (Broom, 1991), a satisfaction of behavioural needs (Dawkins, 1990;
249 Duncan, 1998), an absence of negative emotions and presence of positive emotions (Duncan, 1998;
250 Fraser, 1992). An important development has been to consider animal-based criteria rather than
251 observations of the conditions of life which may indicate the risks of compromising welfare but not the

252 actual animals' welfare state (Blokhuis et al., 2003; Whay et al., 2003; Wood, 1998). Welfare indicators
253 in most species to day are based on negative states and there are very few, or even no reliable indicator
254 of positive states known to date (*e.g.* Boissy et al., 2007).

255 Physiological indicators such as heart rate or stress hormones are not straightforward indicators, as
256 they can give contradictory informations, and require to be completed by behavioural and postural
257 measures (Dawkins, 2004; Leliveld et al., 2016; Mormède et al., 2007; Paul et al., 2005; von Borell et
258 al., 2007).

259 In the present study, we will apply the following definition of welfare which takes into account all
260 aspects mentioned by former definitions: "a chronic positive mental and physical state resulting from
261 the satisfaction of the animal's behavioural and physiological needs and expectations. This state can
262 vary according to the perception of the situation by the animal" (*e.g.* ANSES, 2018).

263

264 **2) Cognition:**

265 Comparative cognition is the study of similarities and differences in how organisms acquire, store, and
266 act on information (Shettleworth, 2010). There is no widely accepted definition of animal cognition
267 (Yoerg and Kamil, 1991). Animal cognition is often defined as the study of certain types of processes
268 such as attention or memory. The central assumption though is that organisms possess some type of
269 internal representation of the external world. These internal representations are related to the
270 external world in two ways: a coding process on the input side and a relationship to behavior on the
271 output side. Cognitive studies aim generally at understanding these input-output relationships
272 between the assumed internal representations and the external world (Yoerg and Kamil, 1991).
273 According to Dyer (1994), cognitive studies '... postulate processes that organize sensory information
274 into coherent internal models of external events, allowing the animal to respond appropriately to
275 important stimuli even when experiencing them in novel combinations or contexts'. Cognition implies
276 also that brain processes are involved, that allow to process and organize the sensory information and
277 then respond with or without motor responses. The processes generally considered are attention (a
278 core general aspect of cognition), learning, memory, discrimination, categorization, and generalization
279 (see below). When tested, studies on most animal species have revealed a hemispheric specialization
280 (lateralization) of brain processes, especially when dealing with sensory information that bears a
281 valence, hence the study of laterality is part of cognitive research (*e.g.* Andrew and Rogers, 2002).

282 - **Attention**

283 Attention can be defined as set of cognitive processes by which the nervous system organizes sensory
284 stimulations of its environment in order to generate an appropriate behaviour in a given situation
285 (Bushnell, 1998). Attention underlies and facilitates many cognitive processes as learning and memory
286 (Krapp, 1999; Taylor and Fragopanagos, 2005). Different forms of attention have been described:
287 selective attention (*i.e.* the ability to filter and select relevant stimuli of the environment and ignore
288 those that are not pertinent), divided attention (*i.e.* the capacity to process simultaneously several
289 informations), sustained attention (*i.e.* the ability to maintain the same behavioural response over a
290 continuous or repeated activity) and attentional flexibility (*i.e.* the capacity to change the attention's
291 orientation) (Bushnell, 1998; Maquestiaux, 2017; Sohlberg and Mateer, 2001).

292 - **Laterality**

293 Laterality is the systematic preference for the use of one side of the body over the other to realize
294 motor or perceptual tasks involving paired limb or perceptual organs (*e.g.* Hausberger and Henry,
295 2018). In other words, laterality manifests both on the motor (hands, feet) as well as the perceptual
296 (eyes, ears, nostrils) level. Such behavioral laterality emerges from hemispheric lateralization, i.e., the
297 left and right cerebral hemispheres are specialized in controlling distinct neural functions or cognitive
298 processes. Since the late nineteenth century, hemispheric specialization was believed to be a human
299 specificity, but studies over the last 30 years have provided increasing evidence for lateralization in
300 nonhuman mammals, including birds (*e.g.* Symes and Perrin, 2003) and even lower vertebrates (Rogers
301 and Andrew, 2002).

302 Hemispheric specialization is assumed to confer advantage to the functioning of the brain. Among
303 other advantages, cerebral lateralization can enhance neural capacity by allowing parallel and separate
304 processing in the hemispheres: thus, in lateralized individuals, several cognitive tasks that demand the
305 simultaneous but different use of both hemispheres can be performed more efficiently (Rogers and
306 Andrew, 2002). More recent studies in animals converge on the conclusion that stimuli, and in
307 particular visual and auditory stimuli, with different emotional valences induce different lateralized
308 responses. For example, positive emotional stimuli would be preferentially processed by the left
309 hemisphere, while the right hemisphere would be specialized for the processing of negative emotions
310 (Davidson, 1992). We will here concentrate on sensory laterality which has been shown to relate most
311 to cognitive assessment of the valence of the situations.

312

313 - Learning and memorization

314 In the literature, learning is defined as relatively stable behavioural changes or psychological
315 activities attributable to the individual's experience (excluding maturation or fatigue phenomena)
316 (Delacour, 1978).

317 Two large classes of learning have been defined: the non associative and the associative
318 learning. One classical example of non associative learning is habituation, where the response of a (for
319 example frightening) stimulus decreases with the repetition of this stimulus without any (positive nor
320 negative) consequence. A very intense stimulus may however induce a sensitisation (increase of
321 reaction). The term desensitisation, often used by professional trainers is ambiguous as it is not defined
322 in the scientific literature per se and in fact seems to refer to what is defined classically as habituation.

323 The associative learning, also called conditioning learning, involves two types of processes:

324 a) the Pavlovian conditioning where an initially neutral stimulus (*e.g.* a bell sound)
325 becomes a significant signal when associated with an "unconditional" stimulus (*e.g.* meat for a dog)
326 that always trigger a same response (salivation): the dog salivates when hearing the sound
327 (Pavlov, 1904);

328 b) the instrumental learning, the animal learns to associate its own actions with a
329 consequence. This is the principle of trial-error learning (Thorndike, 1898) where the animal randomly
330 explores its environment and discovers that one action repeatedly leads to the same positive (or
331 negative) outcome. Skinner (1938) formalized and developed paradigms to study precisely the
332 processes involved, leading to "operant" standardized training aiming at controlling a defined

333 behaviour or response by having it followed systematically by a reinforcement (Richelle, 1966). In this
334 type of conditioning, the reinforcement is defined as an event that induces an increase of the
335 probability of response (i.e. the desired behavior). Two types of reinforcements are defined:

336 *Positive*: the occurrence of the event increases the probability of response (e.g. palatable food).

337 *Negative*: the disappearance of the aversive event increases the probability of response (e.g. the animal
338 jumps over a small barrier after a light signal that is followed by an electric shock in the initial
339 compartment: jumping allows the shock to be avoided).

340 Negative reinforcement should not be confounded with *punishment* which occurs as an aversive
341 stimulus or unfavourable situation; this appears when the animal has given an unwished response, and
342 aims at diminishing the occurrence of some behaviours.

343

344 Reinforcements are further described as **primary** to indicate those related to an organic function
345 (food, drink, social partner) or **secondary** to indicate that the stimulation (e.g. voice, clicker, stroking)
346 has acquired a reinforcing value by association with a primary reinforcement (e.g. the click noise
347 associated with the lever pushing in the Skinner box) : if the food reinforcement is ceased, extinction
348 is slower if the click persists (Le Ny, 1975). Because primary reinforcers are biologically relevant stimuli
349 that are directly linked to physiological needs, they are inherently understood and the animal needs
350 no training to comprehend the reinforcement (e.g. Giurfa, 2013; Langbein et al., 2007; McCall and
351 Burgin, 2002). They thus differ from secondary (or conditioned) reinforcers that need to be paired with
352 a reinforcing agent such as food to acquire a rewarding value. In general, the effect of secondary
353 reinforcers appears to be too weak and unstable to enable animals to learn a new task, and the
354 acquired reward value is rapidly lost during learning (e.g. McCall and Burgin, 2002; Saltzman, 1949;
355 Sankey et al., 2010b; Zimmerman, 1957). For example, chimpanzees will work to obtain tokens but
356 only if these tokens can be exchanged with food (Sousa and Matsuzawa, 2001).

357 Secondary reinforcements remain overall less efficient than primary reinforcements for learning
358 though (Le Ny, 1975).

359 Different types of rewards can be used in operant conditioning experiments (see above). Food rewards
360 are the most extensively used. Animals can for example learn to press a lever that delivers food (rats:
361 Bullock and Smith, 1953; Olds and Milner, 1954) or be trained to accept care procedure (Reinhardt,
362 1991; Sankey et al., 2010c). It has also been noted that the reinforcing value of the item used varies
363 between individuals which means that the reward or aversive stimulus has to be adapted to the
364 individual (e.g. a horse that never ate apples may not consider a piece of apple as a reward) (Staddon,
365 1983). Skinner (1938) and his followers have described precise laws for successful conditioning
366 procedures that are described in the Mat. Suppl.

367 Other more complex forms of learning do also exist such as latent learning (Tolman and Honzik, 1930)
368 or sudden insight (Köhler, 1925) but they have not been described in horses.

369 Social learning is considered in another article of this issue.

370

371 Memorization is a cognitive process of the brain at the meta-cognitive layer that establishes (encodes
372 and retains) and reconstructs (retrieves and decodes) information in long-term memory (Wang,
373 2009). It constitutes the temporal retention of information acquired through learning (Rosenzweig,
374 1976).

375 - Discrimination

376 Discrimination corresponds to the capacity of animals to learn the relevance of one stimulus over
377 another in predicting reinforcement. Thus, among different stimuli (even closely similar one to each
378 other), animals will be able to detect the difference between those stimuli that are connected with a
379 reward and those that are not. Discrimination learning underlies other cognitive abilities such as
380 abstraction, rule extraction and categorization (Hull, 1950; Reznikova, 2007).

381 - Generalization

382 Rather than focusing on some small and unique features of a given stimulus, animals are able to form
383 associations with broader range of stimulus features that were present during training (Nicol, 2005).
384 This ability underlies the processes of integration of information and determines the procedure of
385 discrimination learning. Generalization is one of the characteristics of both classical and operant
386 conditioning learning. After being trained to respond to a specific stimulus, the animal will exhibit a
387 very similar response to stimuli that resemble the original stimulus but are not identical. According to
388 a “generalisation gradient”, the frequency of response would be function of the similarity degree
389 between the two stimuli: the more similar the stimulus is to the original, the greater the frequency of
390 response will be (Reznikova, 2007).

391 - Categorization

392 The environment is formed of objects (social and physical) and events. All have their own particular
393 features but can also share common characteristics. Categorization can be viewed as the ability to treat
394 similar, but not identical, things as somehow equivalent, by sorting them into their appropriate
395 categories and by reacting to them in the same manner (Harnad, 2003; Medin and Smith, 1984; Rosh,
396 1999). This cognitive ability allows for a significant information reduction; a fundamental principle of
397 cognitive economy and therefore widely dispersed among species. According to Herrnstein, (1990),
398 the concept of categorization involves five levels of increasing abstractness including, 1) discrimination,
399 2) categorization by rote, 3) open-ended categorization, 4) conceptual categorization and 5) abstract
400 relations. The study of concept formation was initiated by Herrnstein’s work on pigeons that
401 highlighted their ability to peck for food on people slides (varying in their appearance by their number,
402 orientation, size, colour of their clothing, etc) and do not peck for other slides (Herrnstein and
403 Loveland, 1964).

404

405 **EMOTIONS AND COGNITION**

406 Understanding the link between emotions and cognition may help understand the processes
407 underlying the mutual relationship between cognition and welfare. Horses are not equally challenged
408 by stress, and they also do not respond equally to it. This may be reflected in the longer term.

409 Overall, most studies agree on the negative influence of emotionality on learning performances,
410 whatever the type of task (discrimination: (Fisk and Potter, 1979), instrumental: (Le Scolan et al., 1997),
411 maze: (Heird et al., 1986)): with the most emotive animals being less performant. An influence of the
412 type of task was however found by Le Scolan et al. (1997), who showed that animals that crossed a
413 “bridge” in a fear-handling task were more successful in an instrumental, but not a spatial task (see
414 also Hausberger et al., 2007b), and Lansade et al. (2013) found that less reactive horses performed
415 better in an instrumental task while the reactive horses performed better in a pavlovian type of task.

416 Christensen et al. (2012) found that the predisposition to react to frightening stimuli was associated
417 with a decreased performance for a negative reinforcement task trained in a novel environment: no
418 such relation was found for a task with positive reinforcement nor when the training took place in the
419 familiar environment. One study even found that most fearful horses learned an avoidance task better,
420 while least fearful horses learned an instrumental task better with positive reinforcement (Lansade and
421 Simon, 2010). It seems quite possible that fearful horses were more frightened by an aversive stimulus.
422 Thus, Christensen (2012) argued that the observed correlation may relate more to fearfulness during
423 the task than reflect a beneficial effect of fearfulness on learning. This converges with the fact that
424 tactile sensitivity was positively correlated with resistance to extinction in this avoidance test, based
425 on negative reinforcement which consisted in an air puff fixed on a belt on the horse's body, hence
426 acting directly on the horse's skin. However, air puff may be difficult to administer as a negative
427 reinforcement, as it may be difficult to control for intensity.

428 Valenchon et al. (2013c) applied strong stressors during 30 min before or after acquisition on two
429 experimental groups: they found that the non stressed horses (control group) were more performant
430 at the reacquisition phase and that overall temperament (as assessed in a series of tests) was only
431 influential if there was stress. When stress was applied after acquisition, the performance was better
432 in the least reactive horses that startled less and whinnied less in all tests, i.e. considered as the least
433 fearful and least gregarious. In the same line, Valenchon et al. (2013a) found that stressed horses had
434 shorter delayed responses (i.e. shorter working memory) in a delayed response task especially if they
435 had proven to be more fearful in temperament tests. Lansade et al. (2017), using a contingency
436 degradation paradigm (reward associated with response versus reward independent of action),
437 suggested that the most fearful horses would rely more upon the stimulus-response link (« automatic
438 responses »), while the least fearful horses would logically be more sensitive to the response-outcome
439 part.

440 Overall there is clearly an interplay between individual characteristics, the type of task, and the
441 situation when training takes place. Stress was recognized as disturbing learning early by
442 Pavlov when he built his "silence tower", a special building where all external stimulations (light,
443 sounds) were blocked and allowed him to experiment with learning procedures in dogs without any
444 external disturbance (Pavlov, 1904). The different findings on temperament and cognition may reflect
445 differences in the procedures and measures chosen, but also on the traits measured. In the Le Scolan
446 et al (1997) study, neither the reactions to social separation nor to a novel object were predictive of
447 learning performance whether the task was instrumental or spatial, but the horses that crossed
448 successfully a novel (fear-inducing) area while handled learned and memorized better an instrumental
449 task. For example, in Lansade and Simon (2010), and Valenchon et al (2013a), fear could concern strong
450 reactions at crossing a novel area, to a sudden stimulus or reactions all over the different temperament
451 tests; measures could be latency to eat in a conflict of motivation test, flight distance from a sudden
452 stimulus, or startles throughout the different tests. Désiré et al (2002) have however shown that lambs
453 react differently to suddenness and novelty. Finally, the age and type of population may also have an
454 influence. In the same direction, published data obtained on 87 French saddlebred geldings (aged 5-
455 23 years) living in the same conditions and submitted to different emotionality tests (Hausberger et
456 al., 2011), were reanalyzed by examining further their responses to an instrumental task (chest
457 opening). The results show that there is a clear correlation between the bridge test, where a horse was
458 led over an unusual obstacle on the ground while handled, and the time required to open the chest:
459 the less fearful (Le Scolan et al., 1997) horses were better learners (Fig 1a). However, there was no
460 correlation between their responses towards a novel unusual object and their performance in this
461 learning task (Fig 1b). Different emotionality traits and cognitive abilities may thus be differently
462 interrelated.

463 When combining published data from Wolff et al (1997) and Wolff & Hausberger (1996)'s studies on
464 young untrained French saddlebred, we found that there was no correlation between a horses reaction
465 to the bridge and their learning performance in a chest opening or a detour task. However the animals
466 that were successful in both learning tasks had lower emotionality indices in the novel object test than
467 the unsuccessful animals (chest: $N_1=6$, $N_2=7$, $U=7.5$, $p<0.04$; detour: $N_1=10$, $N_2=13$, $U=38$, $p<0.05$).

468 Therefore, different emotionality traits, as measured here through different tasks (Le Scolan et al.,
469 1997), may each differently influence acquisition and memorization processes, but different
470 populations (here young untrained versus adult trained) may show different influences of emotionality
471 on learning and memory.

472 ***In conclusion***, although there is clearly an interrelation between emotions and learning, clarification
473 is needed on how it works. Care has to be taken to train the animals in a quiet non stressful
474 environment. Attention certainly has to be given to individual characteristics in order to adapt the
475 training program. Even though the most fearful animals may learn better avoidance tasks, it may
476 induce even more fear and probably compromise the animal welfare if repeated regularly.

477 Indeed, individual differences may reflect differences in temperament, but also welfare conditions.
478 Thus, animals in impoverished conditions may become more reactive in challenging situation than
479 animals that have access to a socially and/or spatially normal (Lesimple et al., 2011; Rivera et al., 2002)
480 or « enriched » environment (Lansade et al., 2014). Even depressed, and otherwise apathetic, horses
481 may show extreme high reactions when facing a novel object in a familiar environment (Fureix et al.,
482 2012c). Dressage horses, which experience more riding constraints and exhibit more welfare problems,
483 show a higher emotionality in temperament tests (Hausberger et al., 2009, 2011). Horses experiencing
484 mostly punishments may also become overreactive (McGreevy and McLean, 2005).

485

486 **WELFARE AND COGNITIVE ABILITIES**

487 Few studies have effectively dealt with this question: are welfare and cognitive abilities related?

488 *Housing and management*

489 Pastured and group-housed young horses progress more quickly during training than those housed in
490 single stalls (Rivera et al., 2002; Søndergaard and Halekoh, 2003). Lansade et al. (2014) tested the
491 learning performances in a food-rewarded target-learning task of yearlings kept outside training either
492 in « enriched » (varied diet, turned out in groups regularly, large stalls, music and objects) or in «
493 control » conditions: both groups learned but the yearlings living otherwise in “enriched” conditions
494 learned better than the control when there was a primary positive reinforcer associated (i.e. were
495 more sensitive to outcome). Since the control condition corresponds to the usual impoverished
496 management conditions of most domestic horses, these results mostly indicate that the usual domestic
497 situation (more than 90% of the French riding school horses are in single stalls (Lesimple et al., 2016b))
498 may well depress the ability of horses to assess the outcome of their actions. Boissy et al. (2007)
499 suggest that such procedures where “environmental enrichment” consists of adding resources to an
500 impoverished setting are called “housing supplementation” (Benefiel et al., 2005). It would also be
501 important to disentangle the precise aspects involved for some « enrichments » may well be stressful
502 for some horses (*e.g.* frustration with Edinburgh football, Goodwin et al., 2007).

503

504 **Animal-based indicators**

505 Stereotypic behaviours and other abnormal repetitive behaviours

506 Stereotypic behaviours are a common well known expression of altered welfare and chronic stress,
507 reflecting inappropriate conditions of life (Mason, 1991). In horses, there are many aspects involved
508 such as availability of roughage, group housing, weaning conditions or even riding techniques (Lesimple
509 et al., 2016a; Mills, 2005), mostly divided into oral or locomotor stereotypies. Different authors have
510 suggested that oral stereotypies and especially crib biting (horse grasps a fixed object with its incisors,
511 pull back and draws air into the cranial oesophagus while emitting a characteristic pharyngeal grunt,
512 (McGreevy et al., 1995)) are associated with acidity in the digestive tract, due to an excess, in particular,
513 of starch (Nicol, 1999). Different types of stereotypies and abnormal repetitive behaviors can emerge
514 according to the type of work the animals are used for (Hausberger et al., 2009). Stereotypies have
515 been sometimes associated with high plasma endorphin levels in horses (Lebelt et al., 1998; McGreevy
516 and Nicol, 1998) and in other species (Cronin, 1985) although large variations appear between studies.
517 Endorphins may be involved both in terms of plasma levels, reflecting then the release of pituitary
518 endorphin in the blood as a HPA stress response, and in the brain as high levels of endorphins (or
519 opioids) in basal ganglia are associated with the onset and maintenance of stereotypic behaviours
520 (Nisticò et al., 1981). Opioids are supposed to have a general negative effect on learning (Guarna et al.,
521 2004; Hoyamoun et al., 2003), an impact of endorphins may explain our results. The mesoaccumbens
522 and nigrostriatal systems are involved in stereotypies in other animals (Cabib et al., 1998). Basal ganglia
523 seem to be involved in stereotypies of animals as well as in several motor disorders in humans (Garner
524 et al., 2003; Nurnberg et al., 1997; Powell et al., 1999) While only one study presents a relationship
525 between learning and motor disorders in children (Mahone et al., 2004), the tics and compulsive
526 disorders observed in the Tourette syndrome seem to be associated with learning disabilities (Burd et
527 al., 1992; de la Tourette, 1899; Leckman, 2002; Marsh et al., 2004). These disorders result from a
528 dysfunction of basal ganglia (Fattapposta et al., 2005; Singer, 2005), which play a major role in learning,
529 motivation, sensitivity to reward and action selection (Mason and Latham, 2004; Parker et al., 2008).
530 Hausberger et al (2007a) tested 77 SF geldings in an instrumental task (chest opening) and compared
531 animals that had been exhibiting ARB (abnormal repetitive behaviours: e.g. repetitive tongue twisting,
532 licking) and STB (stereotypic behaviours: e.g. weaving) over two observation periods at 3 months
533 interval were less performant in an instrumental task (chest opening) than animals without any
534 repetitive abnormal behaviour. Because these horses also spent less time lying and sleeping in their
535 stall, the authors attributed this deficit to a potential fatigue leading to deficits of attention. No
536 variation according to the type of abnormal behaviour could be found (Hausberger, unpubl. data).

537 Alterations of the learning process were also found in studies of crib-biting horses although the low
538 sample sizes sometimes hinder definitive conclusions. Crib biters appeared to favour S-R (stimulus-
539 response) processes over the R-O (response-outcome) process when they learned (Parker et al., 2008,
540 2009) and to resist more to extinction (Hemmings et al., 2007; Kirsty et al., 2015). These findings,
541 according to the authors, reflect a tendency for automated habitual responses and are due to
542 abnormalities in the dopamine system of the ventral and dorsolateral putamen striatum (McBride and
543 Hemmings, 2005). As mentioned by authors (*e.g.* Hemmings et al., 2007), “the processes are not quite
544 clear yet due to the many possible multimodulatory effects that dopamine systems can have within
545 the striatum”.

546 Vertebral disorders

547 Back disorders are highly common in riding horses and may, like in humans, be associated with chronic
548 back pain (Hausler, 1996; Lesimple et al., 2016a). In humans, chronic back pain has an impact on a
549 subset of cognitive domains including attention, learning, and memory (Mao et al., 2014). Chronic pain
550 leads to sensory inattention and withdrawal (Eccleston and Crombez, 1999). In a study by Rochais et
551 al (2016), more than 100 riding center horses were, on one hand, observed in their home stall, and on
552 the other hand examined, for half of them, by trained chiropractors, for the other half through an EMG
553 (electromyogram). The time spent by horses in observation (quiet standing while monitoring the
554 environment, head and ears mobile) was negatively correlated with the estimated degree of alteration
555 of their back: the more healthy the horses, the more attention they showed towards their
556 environment. On the contrary, the most affected horses showed an attentional disengagement.

557 Depression-like syndrome/apathy

558 Different reports indicate that in clearly altered health or welfare states, horses and donkeys may seem
559 to have “switched off” (i.e. no interest for their environment) (Ashley et al., 2005; Burn et al., 2010;
560 Pritchard et al., 2005). This syndrome, characterized by head lowering and above all bouts of total
561 immobility (fixed stare, head, ears, (Fureix et al., 2012c; Popescu and Diugan, 2013; Swann, 2006), is
562 also associated with abnormally low cortisol levels and anhedonia (Fureix et al., 2012c, 2015). Swann
563 (2006), Burn et al (2010), and Popescu & Diugan (2013) showed that such horses or donkeys had often
564 injuries, skin wounds, and a poor body condition. It has been proposed that this state results from
565 learned helplessness, when individuals have no escape from repeated aversive events (e.g. pain when
566 ridden) (Hall et al., 2008). Such animals are non responsive to external events such as a human
567 approach (Burn et al., 2010; Fureix et al., 2012c; Pritchard et al., 2005; Swann, 2006) and show lowered
568 and abnormal responses to sensory stimulations such as tactile or auditory stimulations (Fureix et al.,
569 2012c; Rochais et al., 2016b). Such lowered attention could reflect either a problem of resource
570 allocation resulting from deficits in engaging in effortful cognitive processes or a negative emotional
571 state that disrupts attention from external stimulations.

572 Sensory withdrawal appears regularly in case of sickness and can also be expressed through particular
573 orientations. Thus anaemic (haemoglobin counts lower than norm) horses tend to spend most time
574 oriented towards a wall, away from visual stimulations and human contact

575 (Hausberger et al., 2016). Positioning in the stall is one of the key parameters for welfare in Price et al
576 (2003), more time in the front being a positive sign.

577

578 **In conclusion**, although studies are still scarce, alterations of welfare in horses do indeed affect the
579 cognitive abilities of horses. Learning tasks require that arousal is moderate with intermediate HPA
580 activation (Mendl et al., 2009). Elevated or abnormally low levels of cortisol, as observed in the highly
581 reactive and depressed-like horses respectively, may hinder memory formation. The recent finding
582 that chronic stress may be associated with abnormally low cortisol levels in horses (Pawluski et al.,
583 2017) suggests that improvement of welfare conditions should be a central question for horse owners,
584 riders and trainers, who want their horses to perform well and learn new tasks.

585 Moreover, the observed lower sensitivity to actions’ outcomes, reduced attentional engagement, and
586 sensory withdrawal show that the welfare state has an important impact on how horses « see the
587 world ». One may thus expect horses with reduced interest for their environment to be less willing to
588 interact positively with humans and learn new tasks.

589

590 **WELFARE AFFECTS HOW HORSES “SEE THE WORLD”**

591 **Long term affective states: mood**

592 Long term affective states are known to have an impact on cognitive processes such as attention,
593 memory, learning, and decision (Paul et al., 2005). Positive states will bias attention and appraisal of
594 the situation, optimistic persons overevaluating ambiguous signals as positive signals (Paul et al.,
595 2005). Cognitive bias studies where animals are trained to discriminate two stimuli or locations,
596 associated respectively with a positive or negative valence, then requested to respond to tests with
597 ambiguous locations or cues, have successfully shown that gentle contact with humans (Brajon et al.,
598 2015) and improvements of life conditions (Bateson and Matheson, 2007; Harding et al., 2004) were
599 associated with more « optimistic » responses. In a recent study, 34 horses living in restricted or more
600 naturalistic (recreational activities) conditions were submitted to a cognitive bias test (Henry et al.,
601 2017). They were trained to go for example to a right location for the positive or aversive stimulus and
602 to the left for the opposite. Both populations learned the task, but when the ambiguous signal was
603 closest (“near negative”) to the aversive location, all the recreational horses went to this location,
604 showing a positive judgement bias, whereas only 25 - 40 % of the other horses did. Welfare
605 assessments confirmed the compromised state of the horses living in restricted conditions, but also
606 confirmed the impact of the welfare state on the animal’s cognitive biases. The more pessimistic (as
607 shown by their negative judgement bias Harding et al., 2004) the horses were in the test, the more
608 they had the ears backwards while feeding (sign of discomfort and/or « bad mood ») in their usual
609 setting, and the more they expressed aggressiveness towards the experimenter during human-horse
610 relationship tests.

611 Aggressiveness towards conspecifics is observed in welfare challenging situations such as in pigs after
612 re-housing and mixing with unfamiliar individuals (Stukenborg et al., 2011) or in absence of straw-
613 bedding enrichment (Day et al., 2008). In horses, such predominance of aggressive behaviours was also
614 observed in paddocks where mares were housed with high density and no food availability (Benhajali
615 et al., 2008). Horses may also become more aggressive towards humans as a result of social isolation
616 (Søndergaard and Halekoh, 2003). Aggressiveness towards conspecifics (Budras et al., 2001) and
617 humans is frequent when animals are in pain (Ashley et al., 2005; Fureix et al., 2010). Interestingly,
618 aggressiveness appears as a general state, as riding school horses that were aggressive in the paddock
619 were also those who threatened the experimenter in the stable (Hausberger et al., 2016). According
620 to the cognitive neuroassociation theory, unpleasant experiences produce negative affects that
621 stimulate “aggressive thoughts” (Berkowitz, 1993). Conversely, young horses kept in “enriched”
622 conditions as well as sport horses benefitting from a device allowing quasicontinuous foraging
623 developed a more friendly “attitude” towards humans (Lansade et al., 2014; Rochais et al., 2018a),
624 while broodmares given access to continuous feeding developed more affiliative interactions with
625 conspecifics (Benhajali et al., 2010). Although of course the interactions will play a major role in the
626 way horses perceive humans (see further), the above mentioned examples clearly indicate that the
627 encounters have less chance to be positive if the horse is experiencing a negative affect due to its
628 conditions of life.

629

630 **Anticipation of events**

631 The domestic or captive environment is usually highly predictable, with routine schedules for meals
632 particularly important in determining the daily patterns of an animal’s activity (e.g. Clegg et al., 2017;

633 Lima et al., 2017; Watters, 2014). Environmental conditions, such as light or food quality are much
634 more predictable than they would be in natural conditions. The animals can therefore learn to associate
635 (Pavlovian conditioning) time or signals with significant events which can be either positive or negative
636 (Pavlov, 1927). Many species for example show anticipatory behaviours just before feeding times,
637 which reflects their ability to « project » in the future; as is the case for any associative learning (signal
638 or time will be followed by a consequence) (e.g. (Aubè et al., 2017; Moe et al., 2006; Vinke et al., 2004).
639 Because motivation is involved, in the case of event-related anticipation, only relevant events are
640 retrieved in the environment (Spruijt et al., 2001). In case of time-related anticipation, the animals
641 would rely upon the routine intervals between two occurrences (e.g. going out) that would come under
642 one category known as interval timing, the end of one event and the beginning of the same following
643 event being stored in the working memory (Balsam et al., 2009). Finally, anticipatory activity could
644 depend not upon the known circadian oscillator but upon a different circadian oscillator (Storch and
645 Weitz, 2009). Thus anticipation of events involves learning, memory, timing and homeostatic processes
646 (Balsam et al., 2009).

647 It has been proposed that anticipatory behaviours about positive events are a good welfare indicator
648 as they reflect reward-sensitivity related to previous experiences (Spruijt et al., 2001). This of course
649 opposes to the anhedonia observed in some depressive syndromes (see above), although to our
650 knowledge no specific study has tried to investigate anticipatory behaviours in otherwise apathetic
651 animals.

652 Anticipatory behaviours correspond to an increase of activity (number of behavioural changes),
653 increased attention towards external signals, but also often include frustration behaviours,
654 aggressions, and stereotypic behaviours (e.g. (Vinke et al., 2004)). One study has specifically studied
655 anticipatory behaviours before feeding time and observed, as in other species, more changes of
656 activity, more positioning in the front part of the stall but also signs of frustration such as pawing, bar
657 biting, threatening, yawning, tail swishing (Peters et al., 2012). This is in accordance with the general
658 observation that prefeeding time is best for detecting stereotypic behaviours (e.g. Mills, 2005).
659 Anticipation of meals may reflect expectations of a positive event that may clearly quickly transform
660 into frustration. Fureix et al (2011a) found that more than the expectation of food, the observation of
661 neighbours getting it increases both stereotypies and yawning in adult horses: in a facility where all
662 horses were fed simultaneously, this increase was not observed. There is a discrepancy between
663 laboratory studies where anticipation of rewards is related to short-term responses, and field studies
664 where rewards are anticipated early (up to 30 minutes), and discrepancy between expectancy and time
665 of reward is extensive. Whether anticipatory behaviours can, in all cases, be considered as an indicator
666 of positive emotions, and even more so of good welfare, is therefore a real question. In dolphins,
667 anticipation in the usual setting reflects rather a challenged welfare (e.g. Clegg and Delfour, 2018). We
668 believe that more thought and studies are needed before using anticipation as a reliable indicator
669 (Boissy et al., 2007; Maigrot et al., 2017).

670 Training and work sessions can also lead to anticipation in dolphins (Clegg et al., 2017) and Clegg et al
671 (2018) observed an increase of weaving in horses before exercise while we found horses looking for
672 the training session in the above mentioned study. The type of anticipation behaviors certainly differs
673 according to whether work or training is perceived and memorized as a positive or negative experience
674 (i.e. association of situations (here work sessions) with positive or negative affective states (McGreevy
675 and McLean, 2005). Anticipation of reward or aversive stimulus also explains the role of reinforcers in
676 learning processes, hence training. This sensitivity to the outcome is indeed altered in some types of
677 horses with altered welfare and high emotionality.

678 In Sankey et al (2010b)'s study, anticipation of the training session and its type occurred at the third
679 day of daily 5 minute sessions: the horses' heart rate increased before the session started when a
680 negative but not when a positive reinforcement was used in a backwards task. Anticipation of positive
681 reinforcement also occurs: we reanalysed the data obtained in Sankey et al. (2010b)'s study on 19
682 young horses by analyzing their behavior, before the trainer entered the arena. It appeared that on
683 the last day of training, all positively reinforced yearlings (8/8), but only one control (1/7) were standing
684 near the door she usually used to enter the arena, thus seeming eager to start training. In addition,
685 before she entered, seven reinforced horses gazed at her at least once and five of them oriented their
686 ears towards her, but none of the controls did (gazing: Fisher test: $P= 0.001$; ears orientation : Fisher
687 test: $P= 0.02$).

688 Humans are part of the environment of the domestic horse and play a major role, indirectly through
689 management, and directly via their actions (handling, education, training, work) from very early on
690 (e.g. (Henry et al., 2009). Their constant presence may enhance or diminish welfare according to the
691 emotions they trigger. If humans are a source of fear, repeated encounters may well challenge the
692 animal's welfare through repeated negative emotions (see also (Hemsworth and Coleman, 1998)).

693

694 **HUMAN ACTIONS, COGNITION AND WELFARE**

695 **How horses perceive humans**

696 As indicated earlier, the prevalence of aggressive horses in domestic facilities is worrying and
697 associated with accidents (Søndergaard and Ladewig, 2004). Fureix et al (2009) performed a series of
698 "classical" human-horse relationship tests (Hausberger et al., 2008) on 59 riding school horses:
699 motionless person (MP), approach-contact (ACT), sudden approach (Sud Ap), saddle (appears suddenly
700 with a saddle on the arm), halter fitting. Both positive (attention with forward ears, investigative
701 behaviours) and negative (threats to bite or kick or event actual bites and kicks) behaviours towards
702 the unfamiliar experimenter were recorded. It appeared that the more
703 "invasive" the tests were, the less investigative behaviours (58 % at MP, 30% at ACT, 12% at
704 Sud Ap) and the more threats (15% MP, 32% ACT, 51% Sud Ap) were observed. More than 20% of the
705 horses threatened the experimenter when she came with a saddle or tried to put the halter on.
706 Interestingly, positive reactions at the MP were predictive of positive reactions only at the tests that
707 were not work-related. On the contrary, negative reactions at the MP were highly predictive of
708 difficulties to approach in the ACT and of threats at all other tests, as well as of a longer time to fit the
709 halter.

710 The same horses were observed during stall cleaning by their usual caretaker: horses that threatened
711 their caretaker had more chances to threaten the unfamiliar person during the test while those that
712 showed investigative behaviours did so too in the tests.

713 This study reveals that 1) there was a clear generalization of human "representation" as a source of
714 positive or negative emotions, 2) negative states overtake positive ones (see also Hemsworth and
715 Barnett, 1987), 3) negative reactions were related to approach, and especially in association with work-
716 related objects.

717 These results confirm earlier findings revealing that reactions to unfamiliar persons depend on the
718 caretaker (Hausberger and Muller, 2002) but differ from those of Lansade & Bouissou (2008) who
719 found that positive reactions at the MP test were predictive of positive reactions in other tests.

720 Interestingly, the latter study was performed on young untrained animals which may explain that they
721 did not perceive negatively human approaches or halter fitting, while riding school horses may have
722 associated the approach of an unfamiliar human, and still more so, its association with work-related
723 objects, as predictive of a potentially aversive working situation (see further). This discrepancy
724 between trained and naive horses reinforces the idea of an experienced-based memory of humans
725 (see also (De Passille et al., 1996; Hemsforth and Barnett, 1987; Tallet et al., 2018) for other domestic
726 species).

727 Findings of Baragli et al (2009) further reinforce this idea as they show an increase of heart rate when
728 the handler enters the area and a peak when it fits the halter in riding school horses, grazing horses
729 that were used for sport, and feral ponies trained with a constraining approach whereas no increase
730 of heart rate was observed for feral ponies trained so as to let the individual be in control of the
731 situation (retreat if it wishes so). For these authors, horses make an appraisal of the situation that is
732 based on its evaluation of the event, the intrinsic characteristic of the situation and its significance in
733 relation to the individual's needs.

734

735 **The cognitive components of the human-horse relationship**

736 The establishment of the human-animal interspecific relationship follows the same principles as that
737 of intraspecific relationships: it is an emerging bond from a series of interactions (Hausberger et al.,
738 2008; Hinde, 1979; Waiblinger et al., 2006). Interactions are short events where an individual A
739 addresses an individual B who in turn responds, at that stage, both interlocutors do not have
740 expectations on the other's behaviours or on the issue of the interaction. The relationship is
741 established after a series of interactions enables each interlocutor to have expectations on the
742 outcome of the next interaction. The valence (+/-) of each interaction contributes to building a positive
743 or negative relationship. The patterning of interactions within a relationship involves individual
744 learning (Hinde and Stevenson-Hinde, 1968).

745 This means that any human action leaves a memory that associates the event with its valence. Thus
746 routine procedures, such as foot care, vaccinations or transport, have an impact on the relationship
747 built with the horse (Hausberger et al., 2008). This association can extend to human-related objects:
748 broodmares submitted to repeated vet examinations were more reluctant to approach a vet coat put
749 in their stall than a novel neutral object (De Boyer Des Roches et al., 2008).

750 This is especially the case when vet care or hoof clipping are necessary, and the welfare and security
751 of both the horse and the veterinarian are equally important (Baragli et al., 2015).

752 Conversely, association of humans with food provisioning could explain the "taming" of young
753 untrained horses in Sondergaard & Halekoh (2003) study. The balance between positive and negative
754 events, for example with regards to reinforcement during training, determines the quality of the
755 relationship (see also [Hemsforth and Barnett, 1987] in pigs).

756 Different types of training have been advocated for promoting a good human-horse relationship. De
757 Araugo et al (2014) describe the current co-existing approaches which for some (the so-called
758 "whisperers") suggest that the bond be created through a "conspecific" model: the human is a
759 "dominant" conspecific (but can also at times behave like a predator as in the "join up" approach) ;
760 another is the "conventional" training where horses that misbehave are "naughty", the horse having
761 to "will to please" the human ; and finally the "behavioural" training where training is based on
762 associative and non-associative learning rules (see also (Baragli et al., 2015)). They performed a survey

763 of more than 500 participants that revealed that the choice of one or another training approach was
764 dependent both on education level (more behavioural approaches for persons with a higher education
765 level) and attachment profile. The “conspecific” model attracted more persons with a strong
766 attachment component to their horse, also because probably it uses emotional and anthropomorphic
767 terms and attributes horses’ higher cognitive abilities such as a sense of respect or trust. Since some
768 of them rely upon stressful procedures, this can indeed be misleading at least. The authors conclude
769 that the behavioural training was more representative of persons who are more detached cognitively
770 and emotionally and are more prone, because they consider horses as animals under their
771 responsibility, to try and detect their potential errors when the horse is misbehaving. It is noticeable
772 that dog owners who had a strong attachment to their dog succeeded in solving their dogs’ behavioural
773 problems after taking training classes because they realized that dogs were other animals and hence
774 kept more affective distance (Bennett and Rohlf, 2007; Jagoe and Serpell, 1996).

775 Terms like “sympathetic” methods have been used, even in scientific studies (*e.g.* Visser et al., 2009),
776 for a variety of non-conventional approaches, from the join-up method, where the trainer chases the
777 horse in a round pen until it stops and follows, to approaches where the horses can retreat and learn
778 at their own pace. We believe that such subjective terms should be avoided and more objective and
779 clear terminologies, based on the real actions performed should be used.

780 Whether or not these varied approaches are “sympathetic” from the animal’s point of view is still
781 unclear. Horses trained with the joined up method did not especially follow their trainer when in
782 pasture (Krueger, 2007) and cribbing increased after a 20’ forced exercise in the round pen in Whisher
783 et al (2011)’s study. The reaction of horses towards humans after training with a conventional versus
784 a “sympathetic” method during a human-horse approach test did not differ statistically (Visser et al.,
785 2009).

786 Finally, the negative reactions expressed by some horses for work-related objects in Fureix et al’s
787 (2009) study suggests that work may leave memories that will be positive or negative according to its
788 quality. The type of work has an influence on the emotionality level and the emergence of stereotypies,
789 more frequent in dressage than in jumping or eventing horses (not differing in their initial selection
790 nor in their conditions of life) (Hausberger et al., 2009, 2011) and in horses ridden with an English
791 rather than a Western style (Normando et al., 2011). Lesimple et al (2016a) found that riding technique
792 (high hands, tight reins) of beginners, influenced by their teacher pedagogy, was one of the most
793 influential factors in the emergence of stereotypies and other abnormal repetitive behaviours in riding
794 school horses. Work can be associated with social separation, physical constraints, pain and
795 discomfort, contradictory orders, misuse of punishment (*e.g.* Hausberger et al., 2008; König Borstel et
796 al., 2017; McGreevy and McLean, 2005). Inappropriate riding techniques may lead to chronic back
797 disorders that remain undetected, meaning that the horse is repeatedly experiencing pain and may
798 associate riding sessions with negative emotional states (Lesimple et al., 2013, 2016a). Conflict
799 behaviours arise that can be misinterpreted by the rider and the unescapable situation may lead the
800 horse to learned helplessness (Hall et al., 2008).

801 There is no reason though for the work to be only related to bad memories and negatively connoted.
802 Horses ridden in a more relaxed way (recreational outdoor riding with long reins and low hands) are
803 more optimistic than riding school horses ridden with tight reins and high hands (Henry et al., 2017;
804 Lesimple et al., 2010) and positively reinforced work may lead horses to seek (approaching, making
805 contact) riding material (Hausberger, personal observation). There is an urgent need for more positive
806 approaches of work, including an increased awareness on the importance of appropriate and well-
807 adjusted riding tack (*e.g.* Doherty et al., 2017; Hockenull and Creighton, 2013) and most of all
808 respectful and appropriate riding and training techniques.

810 **Training based on appropriate associative learning may promote a good** 811 **human-horse relationship and welfare**

812 There is been a growing interest to investigate the processes underpinning horse, and more generally
813 animal, learning. This research have generated many practical outcomes such as identifying training
814 strategies that are both effective and respectful of horse welfare.

815 One of the key findings is that the nature of the training experience is crucial: the use of positive or
816 negative reinforcement (see terminology part and suppl mat) determines the nature of the human-
817 horse relationship in the short and in the long terms (Briefer Freymond et al., 2014; Sankey et al.,
818 2010b, 2010c). Horse trainers tend to use more negative reinforcements (McGreevy et al., 2011;
819 Warren-Smith and McGreevy, 2008) which implies using an aversive stimulus that is ceased as soon as
820 the horse produces the desired behaviour (Skinner, 1938). Although equally efficient in eliciting
821 learning in most studies performed, the use of negative reinforcements are associated with increases
822 in stress levels during training (Christensen, 2013; Sankey et al., 2010b; Valenchon et al., 2017; Visser
823 et al., 2009). As mentioned earlier, elevations of heart rate can even be observed before the onset of
824 training, revealing a clear anticipation of the training procedure, during which the horses' behavior
825 (ears backward, postures of avoidance) reflects that it is perceived as a stressful event (Sankey et al.,
826 2010b). Skinner (1976, pp 62) even wrote that "punishment is easily confused with negative
827 reinforcement, sometimes called "aversive control". The same stimuli are used, and negative
828 reinforcement might be defined as "the punishment of not behaving", since if the animal does not
829 respond appropriately, the aversive stimulation increases, although in practical set ups, punishment is
830 exclusively used to diminish a response (see terminology). It has been argued that riding is entirely
831 based on negative reinforcement, as pressure of reins and legs is stopped when the required action is
832 obtained (McGreevy et al., 2011). However, tactile light stimuli may also be, like vocal orders, mere
833 signals that horses have just associated with rewards for example. Whether or not an action is a signal
834 or a negative reinforcement can be recognized at the horse's attitude, even the slightest irritation (and
835 still more so more aversive negative reinforcements) would be associated with ears backwards
836 (amongst other signs) while signals just trigger attention to the order without any kind of negative
837 response from the horse (*e.g.* Sankey et al., 2010b).

838 Exclusive use of negative reinforcement does compromise the human-horse relationship and leave
839 long term memories (Briefer Freymond et al., 2014; Sankey et al., 2010b) which means that its
840 repeated use may compromise horse's welfare. This is still more the case when it is inappropriately
841 used (McLean and McGreevy, 2010). Describing positive and negative reinforcement as merely "adding
842 and subtracting" actions, if forgetting the rewarding and aversive nature associated respectively with
843 each of them, may contribute further to the lack of understanding of the aversive nature of negative
844 reinforcement and hence, beyond the fact that this would be unique to horse training, may not be such
845 a good idea (McLean and Christensen, 2017a). PRT (positive reinforcement training) has been proposed
846 as a way to promote improvements in the management and welfare of zoo and domestic animals (*e.g.*
847 Vasconcellos et al., 2016, antelopes: Grandin et al., 1996; rhinoceros: Holden et al., 2006). It has been
848 shown to improve the welfare of laboratory animals (mice: Cloutier and Newberry, 2008; primates:
849 McKinley et al., 2003; Reinhardt, 2003) and to induce positive emotions in dogs and wolves. Several
850 authors have found that horses trained or rehabilitated using positive reinforcement, which
851 strengthens a behavioural response by delivering a pleasant, appetitive stimulus upon its performance,
852 tend to learn faster, show greater motivation to engage in training, display more exploratory, affiliative
853 behaviours and less problematic defence behaviours during training (*e.g.* biting or kicking) and have

854 better memory (Ferguson and Rosales-Ruiz, 2001; Hockenhull and Creighton, 2013; Innes and McBride,
855 2008; Mccall, 2007;
856 Sankey et al., 2010b, 2010c; Slater and Dymond, 2011; Warren-Smith and McGreevy, 2008). PR horses
857 tend to develop a more positive attitude towards their trainer (Sankey et al., 2010c) that goes beyond
858 training and the individual trainer and remains over a long term (Sankey et al., 2010b, 2010c). In the
859 study by Briefer Freymond et al (2014), during training, horses trained with positive reinforcement
860 showed again more positive behaviours in general (e.g. ears forward) and towards the trainer (comes
861 closer) than those trained by negative reinforcement (e.g. ears backwards). Therefore, when at the
862 end of the training, the negatively reinforced horses showed more positive biases in a judgment test,
863 the authors conclude that this optimistic bias may have been triggered by release of the negative state
864 experienced during treatment. But not all intended reinforcements are equal. Most studies have
865 successfully used food rewards as a positive reinforcement, but professionals and amateurs often
866 choose tactile contact over food: they pat, stroke or scratch the withers in an attempt to mimic horse-
867 horse interactions (Feh and de Mazierès, 1993). Naïve horses do not necessarily perceive stroking as a
868 positive stimulation and may even avoid it (Henry et al., 2006), but scratching at withers, observed in
869 social interactions, was a likely candidate for being a potential primary reinforcer, especially as it is
870 associated with a lowering of heart rate in human-horse interactions (Feh and de Mazierès, 1993).
871 Studies performed to test this hypothesis by using scratching the withers as a positive reinforcement
872 instead of a food reward have however not shown any increase in performance or motivation nor the
873 improvement of the human-horse relationship observed with food reinforcement (Ellis and Greening,
874 2016; Rochais et al., 2014; Sankey et al., 2010a). Even in Watson & Mc Donnell (2018)'s study, which
875 aimed to improve comfort and compliance of horses during mildly aversive health care procedures.
876 Food reinforcement appeared as clearly the most efficient means, as even though rubbing the eyes or
877 scratching the withers also lowered the avoidance response, they did it twice less than food. Only the
878 feed consistently increased median relaxation and movement rating score.

879 Heart rate changes are not reliable predictors of the emotional valence of a situation as positive
880 emotions can be associated with either increase or decrease heart rates (Peters et al., 2012). It is
881 possible that longer stimulations may improve the effect if the procedure, but this effect remained low
882 in Watson & Mc Donnell (2018)'s study despite 3 minutes scratching (a few seconds in the other above
883 mentioned studies). Thus, this means that this procedure is less motivating for the horse and would be
884 less practical to use in a training context, where 3 minutes or more is quite a long time for a
885 reinforcement whereas one small food pellet is efficient. Ton the other hand, the use of PRT has
886 enabled Sankey et al (2010c) to train the horses to accept a series of routine procedures, such as lifting
887 the feet, putting the surcingle, to more invasive procedures, such as a spray and a thermometer. Mc
888 Donnell (2000) was very successful with a procedure that, through positive reinforcement, allowed
889 horses to accept mild vet procedures.

890 Moreover, young naïve horses clearly differed in their reaction to this action, and care should be taken
891 to respect individual preferences in terms of tactile contact (Rochais et al., 2014). As (human) primates
892 that are very sensitive to tactile stimulation (Barnard and Brazelton, 1990; Harlow et al., 1965; Harlow
893 and Suomi, 1974), we often assume that stroking companion animals is also positive for them. This is
894 probably the case in altricial species where siblings have close contact, also with their mothers, and
895 most cats or dogs seem to intrinsically appreciate human contact (Lowe and Bradshaw, 2001). On the
896 other hand, more precocial species like ungulates have generally only one young that receives little
897 physical contact, apart from the very early licking at birth and later direct tactile social interactions,
898 which frequency remains low (Gubernick and Klopfer, 1981). Thus, in cattle, Boivin et al (1998), Jago
899 et al (1999), and Pajor et al (2003) suggested that gentling was not necessarily rewarding for animals,
900 whereas Pajor et al (2000) even found some evidence that cows find brushing to be aversive and

901 Anderson et al. (2002) that farm mammals in petting zoos may show avoidance of contact with
902 humans. Foals can build a better bonding with humans using undirect actions where the foal can be
903 the “actor” of the relationship than when direct handling actions are used (Henry et al., 2006). It seems
904 therefore crucial that humans respect species-specific differences as well as individual differences and
905 let the animal “tell them” by their reactions whether they perceive the procedure positively or not. In
906 Rochais et al (2014)’ s study, some yearlings appeared to appreciate it while others clearly showed
907 reluctance, independently of their early rearing condition (domestic or naturalistic conditions).
908 However, only 4 of them learned the task and their attention to the task remained lower than that of
909 the PR horses (Sankey et al., 2010a). However, tactile stimulations, like vocal stimulations, may become
910 useful secondary reinforcements through an association with food rewards for example (see
911 terminology) and could be useful as such in riding contexts where food rewards are more difficult to
912 use. The choice of appropriate (from the horse’s point of view) rewards is crucial for PRT to be effective
913 (Staddon, 1983).

914 According to Schmidt et al (2010), one of the most stressful event in the riding horse’s life is being
915 mounted for the first time. Therefore, we analysed the data issued from Sankey et al (2010c)’s study
916 on 23 positively trained yearlings) that were further trained (5 min daily training to remain immobile
917 on order and accept procedures with (PR, N=11) or without (C, N=12) a food reward when the horse
918 was successful), when 3 to 4 years of age, to accept saddling, mounting, and riding. First, each horse
919 had to stand still while the handler fitted a saddle pad and a saddle on its back and then while the
920 handler mounted and layed across the saddle on the horse’s back. Results of the experimental first
921 part revealed that after only 10 sessions (i.e. 50 minutes of training), almost all PR horses stood still
922 (without being held) throughout saddling and mounting of a handler across the saddle for at least 10
923 sec., whereas only one of the control horses did so within the allocated time ($N_{PR}= 10/11$, $N_C= 1/12$,
924 Fisher’s exact test, $P<0.001$) (see mat suppl). In the second part, the eight geldings (4PR and 4C) were
925 entrusted to the French military school of equitation (EME) in Fontainebleau, to take part in their usual
926 young horses saddling and mounting scheme. Staff at the EME was naïve regarding the horses’ training
927 history and were told to proceed « as usual ». Videorecordings of the training sessions allowed later
928 performance and behavioural analysis. The usual young horses training scheme included haltering and
929 saddling, lunging, backing and riding at the three gaits. Three members of staff, depending on their
930 availability, performed training. No food reward was used but trainers used verbal praise (e.g. “yes”,
931 “good”) and reprimands (e.g. “no!”) as well as some negative reinforcement (e.g. during lunging
932 sessions). The verbal signals had never been asociated with food or punishment and may have
933 remained meaningless to the horses (Heleski et al., 2015; McLean and McGreevy, 2010). Results of the
934 second part revealed that the geldings that had originally been trained with a food reward (PR)
935 required fewer training sessions than the controls to complete the various stages of the young horses’
936 training scheme (Fig. 2) Overall, PR horses required an average of 5.75 ± 0.48 training session to be
937 ridden outdoors, while controls required 7.75 ± 0.63 sessions to do so (Fig. 2). Moreover, none of the
938 PR horses displayed defence behaviours towards the trainers, while three of the four controls did so
939 at least once during training (rearing, bucking, kicking). Thus, despite of this later use of the same NR
940 procedure, the young horses initially trained with PR remained more motivated in training and positive
941 towards humans. Modalities of initial training may influence greatly subsequent training at later stages.

942 **In conclusion**, horses should be trained using more positive rewarding methods, as used with diverse
943 species (see above) such as captive marine mammals (Brando et al., 2017; Mellen and Ellis, 1996;
944 Ramirez, 2012) and dogs (Hiby et al., 2004) in order to maximize horse welfare and human safety.
945 However, whatever, the reinforcement, the respect of learning principles is a prerequisite to avoid
946 improper learning and the development of undesirable behaviours (see suppl mat). The challenge of
947 using only positive reinforcement especially in a riding context (Brubaker and Udell, 2016) should not

948 discourage researchers and trainers, for it may be easily overcome by establishing secondary
949 reinforcements (e.g. verbal praise) during ground training. However, most so-called blended (Warren-
950 Smith and McGreevy, 2007) or combined (McLean and Christensen, 2017b) approaches where
951 negative reinforcement is followed by positive reinforcements may be easier to use for most trainers
952 and have shown some efficacy in terms of performance (Warren-Smith and McGreevy, 2007). It would
953 be interesting to test the effect of such procedures on the human-horse relationship as well. In any
954 case, the benefits of positive reinforcement initial training persist, even when other techniques are
955 later used in further training or riding (see above). According to Hanggi & Ingersoll (2009): “when what
956 is first learned is a positive experience, subsequent learning and human-horse interactions are
957 facilitated”. These conclusions could help bridge the gap between empirical findings and applied
958 practices. The fact that their own actions have a rewarding effect may also trigger further their well
959 being. It would be interesting to see whether PRT may stimulate horses’ immune system as was
960 observed in pigs (Ernst et al., 2005). The authors suggest that enhanced attention and cognitive activity
961 is source of more positive emotional states.

962

963 **ATTENTION: A CORE ASPECT LINKING COGNITION AND WELFARE?**

964 Attention is an integral part of all cognitive processes and may modulate perception (e.g. (Cousillas et
965 al., 2008)), learning and memory (Rochais et al., 2014, 2017b). Sustained attention has been proposed
966 as the main process linking working memory and learning abilities (Cowan, 1997).

967 It is also, as seen above, strongly affected in the case of an altered welfare: stereotypic horses may
968 focus on their stereotypy, depressed and anaemic horses display no attention towards external
969 stimulations and horses with back disorders show a lesser attentional engagement.

970

971 **Training procedure and attention enhancement**

972 The question also arises of whether training could be used to promote attention (Rochais et al., 2014).

973 We (SB, blind to treatment) reanalyzed data issued from Sankey et al (2010c)’s study on 15 horses (N_{PR}
974 = 8: Positive Reinforcement, N_C = 7 controls, no reinforcement) which had been trained to stand still
975 for up to 30 sec in response to a vocal command (see above) with a focus on their attentional
976 behaviours: ear posture and orientation (auditory attention), gaze direction and duration (visual
977 attention), head and neck orientation (monitoring behaviour), time in contact with the trainer
978 (investigative behaviours including sniffing, nibbling and licking) and location in the training arena. The
979 results revealed that from the first day on, PR horses paid more attention to the trainer; Their auditory
980 attention was oriented towards the trainer for longer since they spent 4.5 ± 0.4 sec with at least one
981 ear oriented towards the trainer compared to 2.3 ± 0.3 sec for C horses (Mann-Whitney U test: $U=33$,
982 $P=0.009$). They also spent more time monitoring and gazing at the trainer than C horses (Fig. 3). In
983 contrast, C horses spent longer with their neck turned away from the trainer ($\bar{X}_C \pm SE= 0.4 \pm 0.3$ s, \bar{X}_{PR}
984 $\pm SE= 0.05 \pm 0.05$ s, Mann-Whitney U test: $U= 71$, $P= 0.05$), gazing at the environment ($\bar{X}_C \pm SE= 6.3 \pm$
985 1.1 s, $\bar{X}_{PR} \pm SE = 4.6 \pm 1.1$ s, Mann-Whitney U test: $U= 75$, $P= 0.03$). The attention of the PR horses
986 increased over the 5 days of training: duration of monitoring and gazes towards the trainer increased
987 for PR horses during training whereas it did not change for C horses (Fig. 3). PR horses also spent more
988 and more time investigating the trainer (Friedman test, $N = 8$, $df = 4$, friedman chi-squared = 17.2, $P=$
989 0.002). For instance, while they nibbled the trainer for 1.6 ± 1.1 s on the first day, they spent 15.5 ± 6.6

990 s performing this behaviour on the last training day (Wilcoxon signed-rank test: $T_{(NPR = 8)} = 1$, $P = 0.01$).
991 On the last day PR horses showed signs of positive anticipation: they seemed eager to start training
992 (see Anticipation of events: standing in front of the door to the arena, gazing at trainer at her arrival).

993 Thus, it appears that positive reinforcement encourages horses to direct and maintain their attention
994 on the trainer and his/her requests. According to Krapp (1999), a high level of motivation automatically
995 leads to a high level of attention and fosters the readiness of an individual to become involved with
996 the relevant information, raising the probability of successful learning. However, the pattern relating
997 attention and learning may be complex, for there seems to be an optimal level of attention in order to
998 facilitate learning, whereas too little or too much attention could, on the contrary, hamper
999 performance (Rochais et al., 2014).

1000

1001 *Could human attention reward the animal?*

1002 Horses are highly sensitive to humans' attentional states (e.g. Krueger et al., 2011). Their obedience
1003 may differ according to whether the handler is looking at them or looks distractedly. Surprisingly,
1004 horses are able to detect a gaze that fixates above their head and are as much disturbed then as when
1005 the person turns her/his back, but only if the trainer is not a familiar person (Sankey et al., 2011a).

1006 One intriguing result in Sankey et al.'s studies was the finding that control (no reward) horses could
1007 slightly improve their performance despite of the absence of reinforcement. One hypothesis would be
1008 that human attention per se may act as a reinforcer, although clearly of lower interest for the horse
1009 than food rewards. A recent study by Nagasawa et al (2015) has shown that oxytocin levels increased
1010 in dog owners when their dog gazes at them. The possibility that human attention may act as a reward
1011 deserves further consideration.

1012 *In conclusion*, the study of attention processes appears highly important and should open new lines
1013 of thought. Field studies are still scarce and the development of new tools for measuring attention or
1014 distractibility in simple or automated versions of attention tests (Rochais et al., 2017a, 2017b) should
1015 give new insights into attention and welfare issues. Telemetric portable EEG devices are also promising
1016 tools for assessing attention during different tasks (Cousillas et al., 2017; Rochais et al., 2018b).
1017 Measuring human attention during interactions and its consequences is another possible promising
1018 research line.

1019

1020 **ASSESSING COGNITIVE PROCESSES TO PROMOTE WELFARE AND** 1021 **POSITIVE EMOTIONS**

1022 **Lateralization**

1023 Like most other species investigated, horses show a lateralization of perception that reflects its
1024 attentional and emotional state. As in other mammals, horses tend to process fear, novel or agonistic
1025 signals in the right hemisphere (e.g. by attending the stimulus with the left eye) (Austin and Rogers,
1026 2014; Larose et al., 2006). Indicators of lateralization could therefore help identifying the impact of
1027 practices and training procedures (Leliveld et al., 2013; Rogers, 2010).

1028 Thus, while young naïve horses are reluctant to be approached and touched on the left side, animals
1029 trained with PRT, accepted a contact whatever the side and location (Sankey et al., 2011b). Ponies

1030 trained with negative reinforcement tended to turn the head so as to look at the trainer with their left
1031 eye while no such bias could be observed for those trained with positive reinforcement (Sankey et al.,
1032 2010b).

1033 Only one study indicates that horses prefer to look at their trainer with the left eye (Farmer et al.,
1034 2010). However, although the authors consider that the trainers were positively connoted, ensuring
1035 the care and feeding of the horses, they were training the horses through a join up technique which,
1036 as mentioned earlier, does not seem to favour the relationship, and may even be associated with an
1037 increase of undesirable behaviors (Whisher et al., 2011). Lateralization biases may well help us identify
1038 desirable and less desirable (from the horse's point of view) procedures to train and handle the horses.
1039 It may be the type of work rather than work itself that may impact laterality.

1040 The observation by Proops & Mc Comb (2012) that horses could only associate the voice and vision of
1041 their owner when he/she was on the right side is clearly intriguing and certainly reflects a particular
1042 processing division between both hemispheres.

1043

1044 **Choice and conditioning procedures**

1045 Approaches to welfare include also preference and motivation tests (Kirkden and Pajor, 2006). Two
1046 types of tests have been developed: choice tests and operant tests. Choice tests have for example
1047 shown that horses prefer a straw-bedded stall to a shavings bedding (Mills, 2000). Choice tests have
1048 to be used with care as animals may mark a preference for a resource that may well not be good for
1049 their health on the long term (van Rooijen, 1982).

1050 Operant tests have been successfully used in horses (Gabor and Gerken, 2012) and have confirmed
1051 that horses are motivated and ready to make efforts to obtain social contacts (Søndergaard et al., 2011)
1052 and are more motivated to go to a paddock where there is food and ideally social contact over going
1053 to an empty paddock and still more so a treadmill or a single stall (Lee et al., 2011).

1054 A more sophisticated but promising approach has consisted to train horses to associate symbols with
1055 outcomes, in the present case putting a blanket on or off their back (Mejdell et al., 2016). After a
1056 training procedure, horses were offered to push one of the symbols (on/off/no change) and were
1057 rewarded whatever their response. The results show that horses adapted their responses to the actual
1058 weather conditions, more of them asking for a blanket on when the weather was relatively cold with
1059 continuous rain. High individual variation appeared which once more shows that management has to
1060 be based on the observation of animals and reminds us of the importance of animal-based criteria.

1061 *In conclusion*, the use of the cognitive particularities of the species may help finding ways to assess
1062 further the impact of human management and training practices on welfare. Further studies are
1063 needed at this stage.

1064

1065 **DOES DOMESTICATION RESULT IN A PROGRESSIVE OR REGRESSIVE EVOLUTION** 1066 **OF COGNITION?: A CHALLENGING VIEW**

1067 Most studies interpret the capacity of domestic animals of interpreting human signals as the testimony
1068 for high cognitive abilities. Whether the domestication process or experience with humans (or both
1069 are involved), these processes are viewed as a progress. However, Röhrs & Ehringer (1993) indicate

1070 that domestication is associated with a reduction of the brain areas (cortex, striatum) that are
1071 important for cognitive processing, which for them corresponds to a « regressive evolution ».
1072 Comparing the cephalisation of different domestic species with that of their wild counterpart, they
1073 conclude that domestic dogs have lost 30% compared to wild canids and lamas 17% compared to
1074 guanacos. Przewalski horses have the highest cephalisation grade amongst the animals they have
1075 investigated. A comparison with the cranial capacity and the basilar length revealed that domestic
1076 horses have a reduction of 14% compared to *free living* Przewalski horses. Interestingly, they did not
1077 find any difference between domestic horses and *zoo* Przewalski horses, whether in cranial capacity,
1078 or ratio brain/body weights. They concluded that zoo animals may have been crossed with domestic
1079 horses.

1080 These observations are really intriguing, and since hybridization is frequent when a wild species
1081 becomes rare, it is probable that the free living animals may also have had crossings with domestic
1082 animals. The authors did not compare their data with those of feral or domestic horses living in
1083 naturalistic conditions. Could it be that the mostly impoverished environment provided by captive and
1084 domestic situations degrades cognition?

1085 The finding that horses and dogs that focus on humans while having to solve a task (and thus
1086 succeeding less) is in this sense intriguing (Lesimple et al., 2012b; Topál et al., 1997). In both cases, the
1087 animals seem to expect humans to solve the problem for them. Gardner (1933) observed the same
1088 phenomenon in the military but not farm or draught horses. In most cases, animals rely upon human
1089 actions for their feeding schedule for example.

1090 The fact that captive/domestic animals “face a schedule that is usually rigid and temporally regular
1091 with reduced choice and controllability” may constitute an “under or over” challenge (Vasconcellos et
1092 al., 2016) for cognition.

1093 Novel or altered behaviours increase with the complexity of the environment (Dukas, 2004) and
1094 frequent and unpredictable environmental changes may select for increased cognitive abilities,
1095 through repeated neural stimulations resulting in faster and better learning, as shown in cichlid fishes
1096 (Kotrschal and Taborsky, 2010).

1097 The barren and boring environments offered to captive/domestic animals lead to reduced attention
1098 and arousal at the least, while as mentioned earlier attention is a core issue. According to da Silva
1099 Vasconcellos et al (2016), the sensitivity to human signals could merely reflect ancestral abilities for
1100 intraspecific cooperation. The housing and training conditions we offer may loosen the interest of
1101 animals to actively take part. One early handling procedure at birth can teach foals that their attempts
1102 to escape are useless, as shown by their reduced mobility when facing a stressor at later ages (Durier
1103 et al., 2012). Yearlings kept in an impoverished environment learn less well than their counterparts
1104 living in a more diversified and complex environment (Lansade et al., 2014; Søndergaard and Ladewig,
1105 2004).

1106 Little emphasis is given yet to the type of population being investigated when cognitive capacities are
1107 tested. Life conditions at least may influence attentional processes, emotional states and behavioural
1108 flexibility. Future studies should look more thoroughly at the importance of behavioural flexibility and
1109 the potential triggering effect of changing, complex or varied environments of life and development.
1110 Would feral horses learn better complex problem solving and less well human-related tasks?

1111 There is a large place for future studies on this complex issue of welfare and cognition, in particular in
1112 horses.

1113 **ACKNOWLEDGEMENTS**

1114 A large part of this review is based on the PhD theses of C. Sankey, C. Rochais, M. Stomp who benefitted
1115 from funding from IFCE (Institut Français du Cheval et de l'Équitation), the French Ministry of Research,
1116 the Région Bretagne and le Fonds l'Eperon. Their studies were funded by IFCE and la Caisse Centrale
1117 de la Mutualité Agricole. We are thankful to A. Lazou for his great help with the literature, to C. Fureix
1118 and C. Lesimple for useful discussions on this topic and to C. Symes for improving the English. Some of
1119 the original data are issued from the MS thesis of A. Wolff and C. Muller, and the DVM Thesis of E.
1120 Gautier.

1121 **AUTHOR CONTRIBUTION**

1122 MH and SH designed the manuscript, SB, CS, CL & MS reanalysed data when appropriate, all authors
1123 contributed to the manuscript.

1124 **CONFLICT OF INTEREST**

1125 The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial
1126 relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

1127 **REFERENCES**

- 1128 Ahrendt, L. P., Christensen, J. W., and Ladewig, J. (2012). The ability of horses to learn an instrumental
1129 task through social observation. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 139, 105–113.
1130 doi:10.1016/J.APPLANIM.2012.03.004.
- 1131 Anderson, U. S., Benne, M., Bloomsmith, M. A., and Maple, T. L. (2002). Retreat Space and Human
1132 Visitor Density Moderate Undesirable Behavior in Petting Zoo Animals. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 5,
1133 125–137. doi:10.1207/S15327604JAWS0502_03.
- 1134 Andrew, R., and Rogers, L. (2002). "The nature of lateralization in tetrapods," in *Comparative*
1135 *Vertebrate Lateralization*, 94–127.
- 1136 Andrieu, J., Henry, S., Hausberger, M., and Thierry, B. (2016). Informed horses are influential in group
1137 movements, but they may avoid leading. *Anim. Cogn.* 19, 451–458. doi:10.1007/s10071-
1138 0150945-2.
- 1139 Ashley, F. H., Waterman-Pearson, A. E., and Whay, H. R. (2005). Behavioural assessment of pain in
1140 horses and donkeys: application to clinical practice and future studies. *Equine Vet. J.* 37, 565–575.
1141 doi:10.2746/042516405775314826.
- 1142 Aubè, L., Fatnassi, M., Monaco, D., Khorchani, T., Lacalandra, G. M., Hammadi, M., et al. (2017). Daily
1143 rhythms of behavioral and hormonal patterns in male dromedary camels housed in boxes. *PeerJ*
1144 5, e3074. doi:10.7717/peerj.3074.
- 1145 Aureli, F., and de Waal, F. B. M. (2000). *Natural conflict resolution*. University of California Press.
- 1146 Austin, N. P., and Rogers, L. J. (2014). Lateralization of agonistic and vigilance responses in Przewalski
1147 horses (*Equus przewalskii*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 151, 43–50.
1148 doi:10.1016/J.APPLANIM.2013.11.011.
- 1149 Bachmann, I., Audig, L., and Stauffacher, M. (2003). Risk factors associated with behavioural disorders
1150 of crib-biting, weaving and box-walking in Swiss horses. *Equine Vet. J.* 35, 158–163.
1151 doi:10.2746/042516403776114216.

- 1152 Baker, A. E. M., and Crawford, B. H. (1986). Observational learning in horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
1153 15, 7–13. doi:10.1016/0168-1591(86)90017-1.
- 1154 Balsam, P., Sanchez-Castillo, H., Taylor, K., Van Volkinburg, H., and Ward, R. D. (2009). Timing and
1155 anticipation: conceptual and methodological approaches. *Eur. J. Neurosci.* 30, 1749–55.
1156 doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06967.x.
- 1157 Baragli, P., Demuru, E., Scopa, C., and Palagi, E. (2017a). Are horses capable of mirror self-recognition?
1158 A pilot study. *PLoS One* 12, e0176717. doi:10.1371/journal.pone.0176717.
- 1159 Baragli, P., Gazzano, A., Martelli, F., and Sighieri, C. (2009). How Do Horses Appraise Humans' Actions?
1160 A Brief Note over a Practical Way to Assess Stimulus Perception. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 739–742.
1161 doi:10.1016/j.jevs.2009.08.006.
- 1162 Baragli, P., Padalino, B., and Telatin, A. (2015). The role of associative and non-associative learning in
1163 the training of horses and implications for the welfare (a review). *Ann. Ist. Super. Sanita* 51, 40–
1164 51. doi:10.4415/ANN_15_01_08.
- 1165 Baragli, P., Vitale, V., Paoletti, E., Sighieri, C., and Reddon, A. R. (2011). Detour behaviour in horses
1166 (*Equus caballus*). *J. Ethol.* 29, 227–234. doi:10.1007/s10164-010-0246-9.
- 1167 Baragli, P., Vitale, V., Sighieri, C., Lanata, A., Palagi, E., and Reddon, A. R. (2017b). Consistency and
1168 flexibility in solving spatial tasks: different horses show different cognitive styles. *Sci. Rep.* 7,
1169 16557. doi:10.1038/s41598-017-16729-z.
- 1170 Barnard, K., and Brazelton, B. (1990). *Touch: The foundation of experience: Full revised and expanded*
1171 *proceedings of Johnson & Johnson pediatric round table X*. US: Intern. Madison.
- 1172 Basile, M., Boivin, S., Boutin, A., Blois-Heulin, C., Hausberger, M., and Lemasson, A. (2009). Socially
1173 dependent auditory laterality in domestic horses (*Equus caballus*). *Anim. Cogn.* 12, 611–619.
1174 doi:10.1007/s10071-009-0220-5.
- 1175 Bates, J. . (1989). “Concepts and measures of temperament.,” in *Temperament in Childhood*, eds. G. A.
1176 Kohnstamm, J. . Bates, and M. . Rothbart, 3–26.
- 1177 Bateson, M., and Matheson, S. (2007). Performance on a categorisation task suggests that removal of
1178 environmental enrichment induces “pessimism” in captive European starlings (*Sturnus vulgaris*).
1179 *Anim. Welf.* 16, 33–36.
- 1180 Benefiel, A. C., Dong, W. K., and Greenough, W. T. (2005). Mandatory “Enriched” Housing of Laboratory
1181 Animals: The Need for Evidence-based Evaluation. *ILAR J.* 46, 95–105. doi:10.1093/ilar.46.2.95.
- 1182 Benhajali, H., Richard-Yris, M.-A., Ezzaouia, M., Charfi, F., and Hausberger, M. (2010). Factors
1183 influencing conception rates of Arab mares in Tunisia. *Anim. Reprod. Sci.* 117, 106–110.
1184 doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2009.04.010.
- 1185 Benhajali, H., Richard-Yris, M.-A., Leroux, M., Ezzaouia, M., Charfi, F., and Hausberger, M. (2008). A
1186 note on the time budget and social behaviour of densely housed horses: A case study in Arab
1187 breeding mares. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112, 196–200. doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.08.007.
- 1188 Bennett, P. C., and Rohlf, V. I. (2007). Owner-companion dog interactions: Relationships between
1189 demographic variables, potentially problematic behaviours, training engagement and shared
1190 activities. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 102, 65–84. doi:10.1016/j.applanim.2006.03.009.
- 1191 Berkowitz, L. (1993). Pain and aggression: Some findings and implications. *Motiv. Emot.* 17, 277–293.
1192 doi:10.1007/BF00992223.

- 1193 Blokhuis, H. J., Jones, R. B., Geers, R., Miele, M., and Veissier, I. (2003). Measuring and monitoring
1194 animal welfare: transparency in the food product quality chain. *Anim. Welf.* 12, 445–455.
- 1195 Boissy, A. (1995). Fear and Fearfulness in Animals. *Q. Rev. Biol.* 70, 165–191. doi:10.1086/418981.
- 1196 Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M. B., Moe, R. O., Spruijt, B., Keeling, L. J., et al. (2007). Assessment
1197 of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol. Behav.* 92, 375–397.
1198 doi:10.1016/J.PHYSBEH.2007.02.003.
- 1199 Boivin, X., Garel, J. ., Durier, C., and Le Neindre, P. (1998). Is gentling by people rewarding for beef
1200 calves? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 61, 1–12. doi:10.1016/S0168-1591(98)00170-1.
- 1201 Bourjade, M., de Boyer des Roches, A., and Hausberger, M. (2009). Adult-Young Ratio, a Major Factor
1202 Regulating Social Behaviour of Young: A Horse Study. *PLoS One* 4, e4888.
1203 doi:10.1371/journal.pone.0004888.
- 1204 Boyd, L., and Keiper, R. (2005). “Behavioural ecology of feral horses,” in *The domestic horse : the
1205 origins, developments, and management of its behaviour* (Cambridge University Press), 249.
- 1206 Brajon, S., Laforest, J.-P., Schmitt, O., and Devillers, N. (2015). The Way Humans Behave Modulates the
1207 Emotional State of Piglets. *PLoS One* 10, e0133408. doi:10.1371/journal.pone.0133408.
- 1208 Brando, S., Broom, D. M., Acasuso-Rivero, C., and Clark, F. (2017). Optimal marine mammal welfare
1209 under human care: Current efforts and future directions. *Behav. Processes.*
1210 doi:10.1016/J.BEPROC.2017.09.011.
- 1211 Briefer, E. F., Maigrot, A.-L., Mandel, R., Freymond, S. B., Bachmann, I., and Hillmann, E. (2015).
1212 Segregation of information about emotional arousal and valence in horse whinnies. *Sci. Rep.* 4,
1213 9989. doi:10.1038/srep09989.
- 1214 Briefer Freymond, S., Briefer, E. F., Zollinger, A., Gindrat-von Allmen, Y., Wyss, C., and Bachmann, I.
1215 (2014). Behaviour of horses in a judgment bias test associated with positive or negative
1216 reinforcement. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 158, 34–45. doi:10.1016/J.APPLANIM.2014.06.006.
- 1217 Broom, D. (1991). Animal welfare: concepts and measurement. *J. Anim. Sci.* 69, 4167–4175.
- 1218 Brubaker, L., and Udell, M. A. R. (2016). Cognition and learning in horses (*Equus caballus*): What we
1219 know and why we should ask more. *Behav. Processes* 126, 121–131.
1220 doi:10.1016/J.BEPROC.2016.03.017.
- 1221 Budras, K. D., Scheibe, K., Patan, B., Streich, W. J., and Kim, K. (2001). Laminitis in Przewalski horses
1222 kept in a semireserve. *J. Vet. Sci.* 2, 1–7.
- 1223 Budzynski, M., Soltys, L., and Wawioro, J. (1992). Estimate of excitability of half-bred horses. in *43
1224 Annual Meeting FEZ, Madrid.*
- 1225 Bullock, D. H., and Smith, W. C. (1953). An effect of repeated conditioning-extinction upon operant
1226 strength. *J. Exp. Psychol.* 46, 349–352. doi:10.1037/h0054544.
- 1227 Burd, L., Kauffman, D. W., and Kerbeshian, J. (1992). Tourette Syndrome and Learning Disabilities. *J.
1228 Learn. Disabil.* 25, 598–604. doi:10.1177/002221949202500909.
- 1229 Burn, C. C., Dennison, T. L., and Whay, H. R. (2010). Relationships between behaviour and health in
1230 working horses, donkeys, and mules in developing countries. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 126, 109–
1231 118. doi:10.1016/J.APPLANIM.2010.06.007.
- 1232 Bushnell, P. J. (1998). Behavioral approaches to the assessment of attention in animals.
1233 *Psychopharmacology (Berl)*. 138, 231–259. doi:10.1007/s002130050668.

- 1234 Cabib, S., Giardino, L., Calzà, L., Zanni, M., Mele, A., and Puglisi-Allegra, S. (1998). Stress promotes major
1235 changes in dopamine receptor densities within the mesoaccumbens and nigrostriatal systems.
1236 *Neuroscience* 84, 193–200. doi:10.1016/S0306-4522(97)00468-5.
- 1237 Cairns, M. C., Cooper, J. J., Davidson, H. P. B., and Mills, D. S. (2002). Association in horses of orosensory
1238 characteristics of foods with their post-ingestive consequences. *Anim. Sci.* 75, 257–265.
1239 doi:10.1017/s1357729800053017.
- 1240 Christensen, J. W. (2013). Object habituation in horses: The effect of voluntary versus negatively
1241 reinforced approach to frightening stimuli. *Equine Vet. J.* 45, 298–301.
1242 doi:10.1111/j.20423306.2012.00629.x.
- 1243 Christensen, J. W., Ahrendt, L. P., Lintrup, R., Gaillard, C., Palme, R., and Malmkvist, J. (2012). Does
1244 learning performance in horses relate to fearfulness, baseline stress hormone, and social rank?
1245 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 140, 44–52. doi:10.1016/j.applanim.2012.05.003.
- 1246 Clarke, J. V., Nicol, C. J., Jones, R., and McGreevy, P. D. (1996). Effects of observational learning on food
1247 selection in horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50, 177–184. doi:10.1016/0168-1591(96)01071-4.
- 1248 Clegg, I. L. K., and Delfour, F. (2018). Cognitive judgement bias is associated with frequency of
1249 anticipatory behavior in bottlenose dolphins. *Zoo Biol.* doi:10.1002/zoo.21400.
- 1250 Clegg, I. L. K., Rödel, H. G., Cellier, M., Vink, D., Michaud, I., Mercera, B., et al. (2017). Schedule of
1251 Human-Controlled Periods Structures Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Behavior in Their
1252 Free-Time. *J. Comp. Psychol.* doi:10.1037/com0000059.
- 1253 Cloutier, S., and Newberry, R. C. (2008). Use of a conditioning technique to reduce stress associated
1254 with repeated intra-peritoneal injections in laboratory rats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112, 158–173.
1255 doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.07.003.
- 1256 Cousillas, H., George, I., Henry, L., Richard, J.-P., and Hausberger, M. (2008). Linking Social and Vocal
1257 Brains: Could Social Segregation Prevent a Proper Development of a Central Auditory Area in a
1258 Female Songbird? *PLoS One* 3, e2194. doi:10.1371/journal.pone.0002194.
- 1259 Cousillas, H., Oger, M., Rochais, C., Pettoello, C., Ménoret, M., Henry, S., et al. (2017). An Ambulatory
1260 Electroencephalography System for Freely Moving Horses: An Innovating Approach. *Front. Vet.*
1261 *Sci.* 4, 57. doi:10.3389/fvets.2017.00057.
- 1262 Cowan, N. (1997). *Attention and memory*. Oxford Uni.
- 1263 Cozzi, A., Sighieri, C., Gazzano, A., Nicol, C. J., and Baragli, P. (2010). Post-conflict friendly reunion in a
1264 permanent group of horses (*Equus caballus*). *Behav. Processes* 85, 185–190.
1265 doi:10.1016/J.BEPROC.2010.07.007.
- 1266 Cronin, G. M. (1985). The development and significance of abnormal stereotyped behaviours in
1267 tethered sows.
- 1268 Dantzer, R. (1988). Les émotions. *Paris Press. Univ. Fr.*, 121.
- 1269 Darwin, C. (1872). *The expression of the emotions in man and animals*. Philosophi. New York.
- 1270 Davidson, R. J. (1992). Emotion and Affective Style: Hemispheric Substrates. *Psychol. Sci.* 3, 39–43.
1271 doi:10.1111/j.1467-9280.1992.tb00254.x.
- 1272 Dawkins, M. (2004). Using behaviour to assess animal welfare. *Anim. Welf.* 13, 3–7.
- 1273 Dawkins, M. S. (1990). From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behav.*
1274 *Brain Sci.* 13, 1–9. doi:10.1017/S0140525X00077104.

- 1275 Day, J. E. L., Van de Weerd, H. A., and Edwards, S. A. (2008). The effect of varying lengths of straw
1276 bedding on the behaviour of growing pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 249–260.
1277 doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.02.006.
- 1278 De Boyer Des Roches, A., Richard-Yris, M.-A., Henry, S., Ezzaoui, M., and Hausberger, M. (2008).
1279 Laterality and emotions: Visual laterality in the domestic horse (*Equus caballus*) differs with
1280 objects' emotional value. *Physiol. Behav.* 94, 487–490. doi:10.1016/J.PHYSBEH.2008.03.002.
- 1281 de Kloet, E. R., Joëls, M., and Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat.*
1282 *Rev. Neurosci.* 6, 463–475. doi:10.1038/nrn1683.
- 1283 de la Tourette, G. (1899). La maladie des tics convulsifs. *La Sem. médicale* 19, 153–156.
- 1284 De Passille, A. M., Rushen, J., Ladewig, J., Petherick, C., Marie De Passillé, A., Rushen, J., et al. (1996).
1285 Dairy calves' discrimination of people based on previous handling Dairy Calves' Discrimination of
1286 People Based on Previous Handling 1. *J. Anim. Sci* 74, 969–974.
- 1287 DeAraugo, J., McLean, A., McLaren, S., Caspar, G., McLean, M., and McGreevy, P. (2014). Training
1288 methodologies differ with the attachment of humans to horses. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 9,
1289 235–241. doi:10.1016/j.jveb.2014.05.001.
- 1290 Delacour, J. (1978). *Neurobiologie de l'apprentissage*. Paris Maso.
- 1291 Désiré, L., Boissy, A., and Veissier, I. (2002). Emotions in farm animals: a new approach to animal
1292 welfare in applied ethology. *Behav. Processes* 60, 165–180. doi:10.1016/S0376-6357(02)00081-
1293 5.
- 1294 Doherty, O., McGreevy, P. D., and Pearson, G. (2017). The importance of learning theory and equitation
1295 science to the veterinarian. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 190, 111–122.
1296 doi:10.1016/j.applanim.2017.02.012.
- 1297 Dukas, R. (2004). Causes and Consequences of Limited Attention. *Brain Behav Evol* 63, 197–210.
1298 doi:10.1159/000076781.
- 1299 Dumont, B., and Boissy, A. (1999). Relations sociales et comportement alimentaire au pâturage. *Prod.*
1300 *Anim.* 1 (12), 3-10.
- 1301 Duncan, I. J. (1998). Behavior and behavioral needs. *Poult. Sci.*
1302 77, 1766–1772. doi:10.1093/ps/77.12.1766.
- 1303 Durier, V., Henry, S., Sankey, C., Sizun, J., and Hausberger, M. (2012). Locomotor Inhibition in Adult
1304 Horses Faced to Stressors: A Single Postpartum Experience May be Enough! *Front. Psychol.* 3, 442.
1305 doi:10.3389/fpsyg.2012.00442.
- 1306 Dyer, F. (1994). "Spatial cognition and navigation in Insects," in *Behavioral mechanisms in evolutionary*
1307 *ecology* (University of Chicago Press), 469.
- 1308 Eccleston, C., and Crombez, G. (1999). Pain Demands Attention: A Cognitive-Affective Model of the
1309 Interruptive Function of Pain. *Psychol. Bull.* 125, 356–366.
- 1310 Ellis, S., and Greening, L. (2016). Positively reinforcing an operant task using tactile stimulation and
1311 food – a comparison in horses using clicker training. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 15, 78.
1312 doi:10.1016/j.jveb.2016.08.008.
- 1313 Ernst, K., Puppe, B., Schön, P. C., and Manteuffel, G. (2005). A complex automatic feeding system for
1314 pigs aimed to induce successful behavioural coping by cognitive adaptation. *Appl. Anim. Behav.*
1315 *Sci.* 91, 205–218. doi:10.1016/J.APPLANIM.2004.10.010.

- 1316 Farmer, K., Krueger, K., Byrne, R. W., and Byrne, R. W. (2010). Visual laterality in the domestic horse
1317 (Equus caballus) interacting with humans. *13*, 229–238. doi:10.1007/s10071-009-0260-x.
- 1318 Fattapposta, F., Restuccia, R., Colonnese, C., Labruna, L., Garreffa, G., and Bianco, F. (2005). Gilles de
1319 la Tourette syndrome and voluntary movement: A functional MRI study. *Psychiatry Res. Neuroimaging* *138*,
1320 269–272. doi:10.1016/J.PSYCHRESNS.2005.02.001.
- 1321 Feh, C. (2005). “Relationships and communication in socially natural horse herds,” in *The domestic*
1322 *horse: The origins, development, and management of its behaviour*, eds. D. S. Mills and S. .
1323 McDonnell, 83–93.
- 1324 Feh, C., and de Mazierès, J. (1993). Grooming at a preferred site reduces heart rate in horses. *Anim.*
1325 *Behav.* doi:10.1006/anbe.1993.1309.
- 1326 Ferguson, D., and Rosales-Ruiz, J. (2001). Loading the problem loader: the effect of target and training
1327 and shaping on trailer-loading behavior of horses. *J. Appl. Behav. Anal.* *34*, 409–424.
- 1328 Fisk, J. C., and Potter, G. D. (1979). Discrimination Reversal Learning in Yearling Horses. *J. Anim. Sci.* *49*,
1329 583–588.
- 1330 Fraser, A. F. (1992). The behaviour of the horse. *Behav. horse*.
- 1331 Fureix, C., Beaulieu, C., Argaud, S., Rochais, C., Quinton, M., Hausberger, M., et al. (2015). Investigating
1332 anhedonia in a non-conventional species: do some riding horses Equus caballus display symptoms
1333 of depression? *Appl. Anim. Behav. Sci.* *162*, 26–36.
- 1334 Fureix, C., Bourjade, M., Henry, S., Sankey, C., and Hausberger, M. (2012a). Exploring aggression
1335 regulation in managed groups of horses Equus caballus. *Appl. Anim. Behav. Sci.* *138*, 216–228.
1336 doi:10.1016/J.APPLANIM.2012.02.009.
- 1337 Fureix, C., Bourjade, M., Henry, S., Sankey, C., and Hausberger, M. (2012b). Exploring aggression
1338 regulation in managed groups of horses Equus caballus. *Appl. Anim. Behav. Sci.* *138*, 216–228.
1339 doi:10.1016/j.applanim.2012.02.009.
- 1340 Fureix, C., Gorecka-Bruzda, A., Gautier, E., and Hausberger, M. (2011a). Cooccurrence of Yawning and
1341 Stereotypic Behaviour in Horses (Equus caballus). *ISRN Zool.*, *10*. doi:10.5402/2011/271209.
- 1342 Fureix, C., Hausberger, M., Seneque, E., Morisset, S., Baylac, M., Cornette, R., et al. (2011b). Geometric
1343 morphometrics as a tool for improving the comparative study of behavioural postures.
1344 *Naturwissenschaften* *98*, 583. doi:10.1007/s00114-011-0803-2.
- 1345 Fureix, C., Jegou, P., Henry, S., Lansade, L., and Hausberger, M. (2012c). Towards an Ethological Animal
1346 Model of Depression? A Study on Horses. *PLoS One* *7*, e39280.
1347 doi:10.1371/journal.pone.0039280.
- 1348 Fureix, C., Jegou, P., Sankey, C., and Hausberger, M. (2009). How horses (Equus caballus) see the world:
1349 humans as significant “objects.” *Anim. Cogn.* *12*, 643–654. doi:10.1007/s10071-009-0223-2.
- 1350 Fureix, C., Menguy, H., and Hausberger, M. (2010). Partners with Bad Temper: Reject or Cure? A Study
1351 of Chronic Pain and Aggression in Horses. *PLoS One* *5*, e12434.
1352 doi:10.1371/journal.pone.0012434.
- 1353 Gabor, V., and Gerken, M. (2012). Cognitive testing in horses using a computer based apparatus. *Appl.*
1354 *Anim. Behav. Sci.* *139*, 242–250. doi:10.1016/j.applanim.2012.04.010.
- 1355 Gardner, L. P. (1933). The responses of horses to the situation of a closed feed box. *J. Comp. Psychol.*
1356 *15*, 445–467. doi:10.1037/h0074308.

- 1357 Garner, J. P., Meehan, C. L., and Mench, J. A. (2003). Stereotypies in caged parrots, schizophrenia and
 1358 autism: evidence for a common mechanism. *Behav. Brain Res.* 145, 125–134.
 1359 doi:10.1016/S01664328(03)00115-3.
- 1360 Giurfa, M. (2013). Cognition with few neurons: higher-order learning in insects. *Trends Neurosci.* 36,
 1361 285–294. doi:10.1016/J.TINS.2012.12.011.
- 1362 Goldsmith, H. H., Buss, A. H., Plomin, R., Rothbart, M. K., Thomas, A., Chess, S., et al. (1987).
 1363 Roundtable: What Is Temperament? Four Approaches. *Child Dev.* 58, 505. doi:10.2307/1130527.
- 1364 Goodwin, D., Davidson, H. P. B., and Harris, P. (2007). A note on behaviour of stabled horses with
 1365 foraging devices in mangers and buckets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 105, 238–243.
 1366 doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.05.018.
- 1367 Grandin, T., Irlbeck, N., and Philips, M. (1996). The advantages of training atemopes to cooperate with
 1368 veterinary procedures. in *Aquarium and zoological association (AZA) conference proceedings*,
 1369 562.
- 1370 Grassé, P. . (1963). Les phénomènes sociaux chez les animaux. *Cah. l'Institut Sci. économiques*
 1371 *appliquée supplément* 139, 7–23.
- 1372 Guarna, M., Ghelardini, C., Galeotti, N., Bartolini, A., Noli, L., Neri, C., et al. (2004). Effects of
 1373 endogenous morphine deprivation on memory retention of passive avoidance learning in mice.
 1374 *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 7, 311–319. doi:10.1017/S1461145704004341.
- 1375 Gubernick, D., and Klopfer, P. (1981). *Parental care in mammals*. New York:
- 1376 Hall, C., Goodwin, D., Heleski, C., Randle, H., and Waran, N. (2008). Is There Evidence of Learned
 1377 Helplessness in Horses? *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 11, 249–266. doi:10.1080/10888700802101130.
- 1378 Hanggi, E. B. (1999). Categorization learning in horses (*Equus caballus*). *J. Comp. Psychol.* 113, 243–
 1379 252. doi:10.1037/0735-7036.113.3.243.
- 1380 Hanggi, E. B. (2003). Discrimination learning based on relative size concepts in horses (*Equus caballus*).
 1381 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 83, 201–213. doi:10.1016/S0168-1591(03)00136-9.
- 1382 Hanggi, E. B. (2005). The Thinking Horse: Cognition and Perception Reviewed. *AAEP Proc.* 51, 246–255.
- 1383 Hanggi, E. B., and Ingersoll, J. F. (2009). Stimulus discrimination by horses under scotopic conditions.
 1384 *Behav. Processes* 82, 45–50. doi:10.1016/J.BEPROC.2009.04.009.
- 1385 Harding, E. J., Paul, E. S., and Mendl, M. (2004). Animal behavior—cognitive bias and affective state.
 1386 *Nature* 427, 312.
- 1387 Harlow, H. F., Dodsworth, R. O., and Harlow, M. K. (1965). Total social isolation in monkeys. *Proc. Natl.*
 1388 *Acad. Sci. U. S. A.* 54, 90–7. doi:10.1073/PNAS.54.1.90.
- 1389 Harlow, H. F., and Suomi, S. J. (1974). Induced depression in monkeys. *Behav. Biol.* 12, 273–296.
 1390 doi:10.1016/S0091-6773(74)91475-8.
- 1391 Harnad, S. (2003). Categorical Perception. *Encycl. Cogn. Sci.*
- 1392 Hausberger, M., Bruderer, C., Le Scolan, N., and Pierre, J.-S. (2004). Interplay between environmental
 1393 and genetic factors in temperament/personality traits in horses (*Equus caballus*). *J. Comp.*
 1394 *Psychol.* 118, 434–446.
- 1395 Hausberger, M., Fureix, C., and Lesimple, C. (2016). Detecting horses' sickness: in search of visible signs.
 1396 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 175, 41–49. doi:10.1016/J.APPLANIM.2015.09.005.

- 1397 Hausberger, M., Gautier, E., Biquand, V., Lunel, C., and Jégo, P. (2009). Could work be a source of
1398 behavioural disorders? A Study in horses. *PLoS One* 4, e7625. doi:10.1371/journal.pone.0007625.
- 1399 Hausberger, M., Gautier, E., Müller, C., and Jégo, P. (2007a). Lower learning abilities in stereotypic
1400 horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 107, 299–306. doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.10.003.
- 1401 Hausberger, M., and Henry, S. (2018). Equine sensory systems. *Encycl. Anim. Cogn. Behav.*
- 1402 Hausberger, M., and Muller, C. (2002). A brief note on some possible factors involved in the reactions
1403 of horses to humans. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 76, 339–344. doi:10.1016/S0168-1591(02)00016-3.
- 1404 Hausberger, M., Muller, C., and Lunel, C. (2011). Does Work Affect Personality? A Study in Horses. *PLoS*
1405 *One* 6, e14659. doi:10.1371/journal.pone.0014659.
- 1406 Hausberger, M., Richard-Yris, M.-A., and Henry, L. (1995). Song sharing reflects the social organization
1407 in a captive group of European starlings (*Sturnus vulgaris*). *J. Comp. Psychol.* 109, 222.
- 1408 Hausberger, M., Richard-Yris, M.-A., and Ricard, A. (2007b). “Interplay between environmental and
1409 genetic factors in the behaviour of horses,” in *Horse behaviour and welfare*, 23.
- 1410 Hausberger, M., Roche, H., Henry, S., and Visser, E. K. (2008). A review of the human–horse
1411 relationship. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 1–24. doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.04.015.
- 1412 Haussler, K. K. (1996). The lower back and pelvis of performance horses receive a closer look. *J. Equine*
1413 *Vet. Sci.* 16, 279–281. doi:10.1016/S0737-0806(96)80220-6.
- 1414 Heird, J. C., Lokey, C. E., and Cogan, D. C. (1986). Repeatability and comparison of two maze tests to
1415 measure learning ability in horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16, 103–119.
1416 doi:10.1016/01681591(86)90103-6.
- 1417 Heleski, C., Wickens, C., Minero, M., DallaCosta, E., Wu, C., Czeszak, E., et al. (2015). Do soothing vocal
1418 cues enhance horses’ ability to learn a frightening task? *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 10, 41–47.
1419 doi:10.1016/J.JVEB.2014.08.009.
- 1420 Hemmings, A., McBride, S. D., and Hale, C. E. (2007). Perseverative responding and the aetiology of
1421 equine oral stereotypy. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104, 143–150.
1422 doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.04.031.
- 1423 Hemsworth, P. H., and Barnett, J. L. (1987). Human-animal interactions. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.*
1424 *Pract.* 3, 339–56.
- 1425 Hemsworth, P. H., and Coleman, G. J. (1998). *Human-Livestock Interactions : the Stockperson and the*
1426 *Productivity and Welfare of Intensively Farmed Animals*. CABI.
- 1427 Henry, S., Fureix, C., Rowberry, R., Bateson, M., and Hausberger, M. (2017). Do horses with poor
1428 welfare show “pessimistic” cognitive biases? *Sci. Nat.* 104, 8. doi:10.1007/s00114-016-1429-1.
- 1429 Henry, S., Hemery, D., Richard, M.-A., and Hausberger, M. (2005). Human–mare relationships and
1430 behaviour of foals toward humans. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 93, 341–362.
1431 doi:10.1016/J.APPLANIM.2005.01.008.
- 1432 Henry, S., Richard-Yris, M.-A., and Hausberger, M. (2006). Influence of various early human–foal
1433 interferences on subsequent human–foal relationship. *Dev. Psychobiol.* 48, 712–718.
1434 doi:10.1002/dev.20189.
- 1435 Henry, S., Richard-Yris, M.-A., Tordjman, S., and Hausberger, M. (2009). Neonatal Handling Affects
1436 Durably Bonding and Social Development. *PLoS One* 4, e5216.
1437 doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0005216.

- 1438 Herrnstein, R. J. (1990). Levels of stimulus control: a functional approach. *Cognition* 37, 133–166.
- 1439 Herrnstein, R. J., and Loveland, D. H. (1964). Complex visual concept in the pigeon. *Science* (80-). 146,
1440 549–51. doi:10.1126/SCIENCE.146.3643.549.
- 1441 Herron, M. A., Martin, J. E., and Joyce, J. R. (1978). Quantitative study of the decussating optic axons in
1442 the pony, cow, sheep, and pig. *Am. J. Vet. Res.* 39, 1137–9.
- 1443 Hiby, E., Rooney, N., and Bradshaw, J. (2004). Dog training methods: their use, effectiveness and
1444 interaction with behaviour and welfare. *Anim. Welf.* 13, 63–69.
- 1445 Hinde, R. A. (1976). Interactions, Relationships and Social Structure. *Man* 11, 1. doi:10.2307/2800384.
- 1446 Hinde, R. A. (1979). *Towards understanding relationships.* , ed. A. Press.
- 1447 Hinde, R. A., and Stevenson-Hinde, J. (1968). *Constraints on learning : limitations and predispositions.*
1448 Academic P.
- 1449 Hockenull, J., and Creighton, E. (2013). Training horses: Positive reinforcement, positive punishment,
1450 and ridden behavior problems. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 8, 245–252.
1451 doi:10.1016/j.jveb.2012.06.002.
- 1452 Holden, M. D., Gregory, J., Watkins, V., and Radford, L. (2006). Operant-conditioning programme for
1453 White rhinoceros, Black rhinoceros and Indian or Greater one-horned Asian rhinoceros
1454 *Ceratotherium simum*, *Diceros bicornis* and *Rhinoceros unicornis* at Whipsnade Wild Animal
1455 Park, Dunstable, UK. *Int. Zoo Yearb.* 40, 144–149. doi:10.1111/j.1748-1090.2006.00144.x.
- 1456 Hothersall, B., Gale, E. V., Harris, P., and Nicol, C. J. (2010). Cue use by foals (*Equus caballus*) in a
1457 discrimination learning task. *Anim. Cogn.* 13, 63–74. doi:10.1007/s10071-009-0245-9.
- 1458 Houtp, K. A., Zahoric, D. ., and Swartzman-Andert, J. . (1990). Taste aversion learning in horses. *J. Anim.*
1459 *Sci.* 68, 2340–2344.
- 1460 Hoyamoun, H., Khavandgar, S., and Zarrindast, M. R. (2003). Morphine state-dependent learning:
1461 interactions with α 2-adrenoceptors and acute stress. *Behav. Pharmacol.* 14, 41–48.
- 1462 Hull, C. L. (1950). Simple qualitative discrimination learning. *Psychol. Rev.* 57, 303–313.
1463 doi:10.1037/h0062099.
- 1464 Innes, L., and McBride, S. (2008). Negative versus positive reinforcement: An evaluation of training
1465 strategies for rehabilitated horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 112, 357–368.
1466 doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.08.011.
- 1467 Jago, J. ., Krohn, C. ., and Matthews, L. . (1999). The influence of feeding and handling on the
1468 development of the human–animal interactions in young cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62, 137–
1469 151. doi:10.1016/S0168-1591(98)00219-6.
- 1470 Jagoe, A., and Serpell, J. (1996). Owner characteristics and interactions and the prevalence of canine
1471 behaviour problems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 47, 31–42. doi:10.1016/0168-1591(95)01008-4.
- 1472 Jeffcott, L. B. (1979). Back Problems in the Horse-A look at past, present and future progress. *Equine*
1473 *Vet. J.* 11, 129–136. doi:10.1111/j.2042-3306.1979.tb01324.x.
- 1474 Kabadayi, C., Bobrowicz, K., and Osvath, M. (2018). The detour paradigm in animal cognition. *Anim.*
1475 *Cogn.* 21, 21–35. doi:10.1007/s10071-017-1152-0.

- 1476 Kiley-Worthington, M. (1976). The Tail Movements of Ungulates, Canids and Felids With Particular
1477 Reference To Their Causation and Function as Displays. *Behaviour* 56, 69–114.
1478 doi:10.1163/156853976X00307.
- 1479 Kirkden, R. D., and Pajor, E. A. (2006). Using preference, motivation and aversion tests to ask scientific
1480 questions about animals' feelings. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100, 29–47.
1481 doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.04.009.
- 1482 Kirsty, R., Andrew, H., Meriel, M.-C., and Catherine, H. (2015). Cognitive differences in horses
1483 performing locomotor versus oral stereotypic behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 168, 37–44.
1484 doi:10.1016/j.applanim.2015.04.015.
- 1485 Kohler, W. (1925). *The mentality of Apes*. New-York:
- 1486 König Borstel, U., Visser, E., and Hall, C. (2017). Indicators of stress in equitation. *Appl. Anim. Behav.*
1487 *Sci.* 190, 43–56. doi:10.1016/j.applanim.2017.02.018.
- 1488 Konstan, D. (2006). *The emotions of the Ancient Greeks : studies in Aristotle and classical literature*.
1489 University of Toronto Press Available at:
1490 https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=oZGPhGZ68wMC&oi=fnd&pg=PP1&dq=aristotle+emotions&ots=6_pwYs6PT9&sig=9ACWxzKeCjGVt3X8w_KulADVvkw#v=onepage&q=aristotleemotions&f=false [Accessed September 5, 2018].
1491
1492
- 1493 Korte, S. M., Olivier, B., and Koolhaas, J. M. (2007). A new animal welfare concept based on allostasis.
1494 *Physiol. Behav.* 92, 422–428. doi:10.1016/J.PHYSBEH.2006.10.018.
- 1495 Kotrschal, A., and Taborsky, B. (2010). Environmental Change Enhances Cognitive Abilities in Fish. *PLoS*
1496 *Biol.* 8, e1000351. doi:10.1371/journal.pbio.1000351.
- 1497 Krapp, A. (1999). Interest, motivation and learning: An educational-psychological perspective. *Eur. J.*
1498 *Psychol. Educ.* 14, 23–40. doi:10.2307/23420114.
- 1499 Krueger, K. (2007). Behaviour of horses in the “round pen technique.” *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104, 162–
1500 170. doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.04.021.
- 1501 Krueger, K., Farmer, K., and Heinze, J. (2014). The effects of age, rank and neophobia on social learning
1502 in horses. *Anim Cogn* 17, 645–655. doi:10.1007/s10071-013-0696-x.
- 1503 Krueger, K., Flauger, B., Farmer, K., and Maros, K. (2011). Horses (*Equus caballus*) use human local
1504 enhancement cues and adjust to human attention. *Anim. Cogn.* 14, 187–201.
1505 doi:10.1007/s10071-010-0352-7.
- 1506 Krueger, K., Marr, I., and Farmer, K. (2017). Equine cognition. *Encycl. Anim. Cogn. Behav.*
- 1507 Kuhl, P. K. (2003). Human speech and birdsong: communication and the social brain. *Proc. Natl. Acad.*
1508 *Sci. U. S. A.* 100, 9645–6. doi:10.1073/pnas.1733998100.
- 1509 Lampe, J. F., and Andre, J. (2012). Cross-modal recognition of human individuals in domestic horses
1510 (*Equus caballus*). *Anim. Cogn.* 15, 623–630. doi:10.1007/s10071-012-0490-1.
- 1511 Langbein, J., Siebert, K., Nuernberg, G., and Manteuffel, G. (2007). The impact of acoustical secondary
1512 reinforcement during shape discrimination learning of dwarf goats (*Capra hircus*). *Appl. Anim.*
1513 *Behav. Sci.* 103, 35–44. doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.04.019.
- 1514 Lansade, L., and Bouissou, M.-F. (2008). Reactivity to humans: A temperament trait of horses which is
1515 stable across time and situations. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114, 492–508.
1516 doi:10.1016/J.APPLANIM.2008.04.012.

- 1517 Lansade, L., Coutureau, E., Marchand, A., Baranger, G., Valenchon, M., and Calandreau, L. (2013).
 1518 Dimensions of Temperament Modulate Cue-Controlled Behavior: A Study on Pavlovian to
 1519 Instrumental Transfer in Horses (*Equus Caballus*). *PLoS One* 8, e64853.
 1520 doi:10.1371/journal.pone.0064853.
- 1521 Lansade, L., Marchand, A. R., Coutureau, E., Ballé, C., Polli, F., and Calandreau, L. (2017). Personality
 1522 and predisposition to form habit behaviours during instrumental conditioning in horses (*Equus*
 1523 *caballus*). *PLoS One* 12. doi:10.1371/journal.pone.0171010.
- 1524 Lansade, L., and Simon, F. (2010). Horses' learning performances are under the influence of several
 1525 temperamental dimensions. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 125, 30–37.
 1526 doi:10.1016/J.APPLANIM.2010.02.010.
- 1527 Lansade, L., Valenchon, M., Foury, A., Neveux, C., Cole, S. W., Layé, S., et al. (2014). Behavioral and
 1528 Transcriptomic Fingerprints of an Enriched Environment in Horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 9,
 1529 e114384. doi:10.1371/journal.pone.0114384.
- 1530 Larose, C., Richard-Yris, M.-A., Hausberger, M., and Rogers, L. (2006). Laterality of horses associated
 1531 with emotionality in novel situations. *Laterality Asymmetries Body, Brain, Cogn.* 11, 355–367.
 1532 doi:10.1080/13576500600624221.
- 1533 Latham, N. R., and Mason, G. J. (2008). Maternal deprivation and the development of stereotypic
 1534 behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110, 84–108. doi:10.1016/J.APPLANIM.2007.03.026.
- 1535 Le Ny, J. F. (1975). *Le conditionnement et l'apprentissage*. PUF.
- 1536 Le Scolan, N., Hausberger, M., and Wolff, A. (1997). Stability over situations in temperamental traits of
 1537 horses as revealed by experimental and scoring approaches. *Behav. Processes* 41, 257–266.
 1538 doi:10.1016/S0376-6357(97)00052-1.
- 1539 Lebelt, D., Zanella, A. J., and Unshelm, J. (1998). Physiological correlates associated with cribbing
 1540 behaviour in horses: changes in thermal threshold, heart rate, plasma β -endorphin and serotonin.
 1541 *Equine Vet. J.* 30, 21–27. doi:10.1111/j.2042-3306.1998.tb05140.x.
- 1542 Leblanc, M.-A. (2010). *The mind of the horse : an introduction to equine cognition*. Press, Har.
- 1543 Leckman, J. F. (2002). Tourette's syndrome. *Lancet* 360, 1577–1586.
 1544 doi:10.1016/S01406736(02)11526-1.
- 1545 Lee, J., Floyd, T., Erb, H., and Houpt, K. (2011). Preference and demand for exercise in stabled horses.
 1546 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 130, 91–100. doi:10.1016/j.applanim.2011.01.001.
- 1547 Leliveld, L. M. C., Döpjan, S., Tuchscherer, A., and Puppe, B. (2016). Behavioural and physiological
 1548 measures indicate subtle variations in the emotional valence of young pigs. *Physiol. Behav.* 157,
 1549 116–124. doi:10.1016/J.PHYSBEH.2016.02.002.
- 1550 Leliveld, L. M. C., Langbein, J., and Puppe, B. (2013). The emergence of emotional lateralization:
 1551 Evidence in non-human vertebrates and implications for farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
 1552 145, 1–14. doi:10.1016/J.APPLANIM.2013.02.002.
- 1553 Lemasson, A., Boutin, A., Boivin, S., Blois-Heulin, C., and Hausberger, M. (2009). Horse (*Equus caballus*)
 1554 whinnies: a source of social information. *Anim. Cogn.* 12, 693–704. doi:10.1007/s10071-0090229-
 1555 9.
- 1556 Lemasson, A., Remeuf, K., and Hausberger, M. (2015a). Tenseness relaxed by vocalizing, illustrated by
 1557 horses (*Equus caballus*) whinnying. *J. Comp. Psychol.* 129, 311–315. doi:10.1037/a0039032.

- 1558 Lemasson, A., Remeuf, K., Trabalon, M., Cuir, F., and Hausberger, M. (2015b). Mares prefer the voices
1559 of highly fertile stallions. *PLoS One* 10, e0118468. doi:10.1371/journal.pone.0118468.
- 1560 Lesimple, C., Fureix, C., Aubé, L., and Hausberger, M. (2016a). Detecting and measuring back disorders
1561 in nonverbal individuals: the example of domestic horses. *Anim. Behav. Cogn.* 3, 159–179.
1562 doi:10.12966/abc.05.08.2016.
- 1563 Lesimple, C., Fureix, C., Biquand, V., and Hausberger, M. (2013). Comparison of clinical examinations
1564 of back disorders and humans' evaluation of back pain in riding school horses. *BMC Vet. Res.* 9,
1565 209. doi:10.1186/1746-6148-9-209.
- 1566 Lesimple, C., Fureix, C., De Margerie, E., Sénèque, E., Menguy, H., and Hausberger, M. (2012a). Towards
1567 a Postural Indicator of Back Pain in Horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 7, e44604.
1568 doi:10.1371/journal.pone.0044604.
- 1569 Lesimple, C., Fureix, C., LeScolan, N., Richard-Yris, M.-A., and Hausberger, M. (2011). Housing
1570 conditions and breed are associated with emotionality and cognitive abilities in riding school
1571 horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 129, 92–99. doi:10.1016/J.APPLANIM.2010.11.005.
- 1572 Lesimple, C., Fureix, C., Menguy, H., and Hausberger, M. (2010). Human direct actions may alter animal
1573 welfare, a study on horses (*Equus caballus*). *PLoS One* 5, e10257.
1574 doi:10.1371/journal.pone.0010257.
- 1575 Lesimple, C., Poissonnet, A., and Hausberger, M. (2016b). How to keep your horse safe? An
1576 epidemiological study about management practices. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 181, 105–114.
1577 doi:10.1016/J.APPLANIM.2016.04.015.
- 1578 Lesimple, C., Sankey, C., Richard, M. A., and Hausberger, M. (2012b). Do Horses Expect Humans to Solve
1579 Their Problems? *Front. Psychol.* 3, 306. doi:10.3389/fpsyg.2012.00306.
- 1580 Lihoreau, M., Brepson, L., and Rivault, C. (2009). The weight of the clan: Even in insects, social isolation
1581 can induce a behavioural syndrome. *Behav. Processes* 82, 81–84.
1582 doi:10.1016/J.BEPROC.2009.03.008.
- 1583 Lima, A., Lemasson, A., Boye, M., and Hausberger, M. (2017). Vocal activities reflect the temporal
1584 distribution of bottlenose dolphin social and non-social activity in a zoological park. *Zoo Biol.* 36,
1585 351–359. doi:10.1002/zoo.21387.
- 1586 Lindberg, A. ., Kelland, A., and Nicol, C. . (1999). Effects of observational learning on acquisition of an
1587 operant response in horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 61, 187–199.
1588 doi:10.1016/S01681591(98)00184-1.
- 1589 Loijens, L. W. ., Janssens, C. J. J. ., Schouten, W. G. ., and Wiegant, V. . (2002). Opioid activity in
1590 behavioral and heart rate responses of tethered pigs to acute stress. *Physiol. Behav.* 75, 621–626.
1591 doi:10.1016/S0031-9384(01)00650-3.
- 1592 Lowe, S. E., and Bradshaw, J. W. S. (2001). Ontogeny of individuality in the domestic cat in the home
1593 environment. *Anim. Behav.* 61, 231–237. doi:10.1006/ANBE.2000.1545.
- 1594 Macleod, C., Mathews, A., and Tata, P. (1986). Attentional bias in emotional disorders. *J. Abnorm.*
1595 *Psychol.* 95, 15–20. Available at: <http://psycnet.apa.org/buy/1986-17383-001>.
- 1596 Mader, D. R., and Price, E. O. (1980). Discrimination mearning in horses: effects of breed, age and social
1597 dominance. *J. Anim. Sci.* 50, 962–965.

- 1598 Mahone, E. M., Bridges, D., Prahme, C., and Singer, H. S. (2004). Repetitive arm and hand movements
1599 (complex motor stereotypies) in children. *J. Pediatr.* 145, 391–395.
1600 doi:10.1016/J.JPEDS.2004.06.014.
- 1601 Maigrot, A.-L., Hillmann, E., Anne, C., and Briefer, E. F. (2017). Vocal expression of emotional valence
1602 in Przewalski's horses (*Equus przewalskii*). *Sci. Rep.* 7, 8779. doi:10.1038/s41598-017-09437-1.
- 1603 Malavasi, R., and Huber, L. (2016). Evidence of heterospecific referential communication from
1604 domestic horses (*Equus caballus*) to humans. *Anim. Cogn.* 19, 899–909. doi:10.1007/s10071-
1605 0160987-0.
- 1606 Mao, C. P., Zhang, Q. L., Bao, F. X., Liao, X., Yang, X. L., and Zhang, M. (2014). Decreased activation of
1607 cingulo-frontal-parietal cognitive/attention network during an attention-demanding task in
1608 patients with chronic low back pain. *Neuroradiology* 56, 903–912. doi:10.1007/s00234-014-1391-
1609 6.
- 1610 Maquestiaux, F. (2017). *Psychologie de l'attention*. De Boeck Supérieur. Bruxelles.
- 1611 Marinier, S., and Alexander, A. J. (1994). The use of a maze in testing learning and memory in horses.
1612 *ELSEVIER Appl. Anim. Behav. Sci.* 39, 177–182.
- 1613 Maros, K., Gácsi, M., and Miklósi, Á. (2008). Comprehension of human pointing gestures in horses
1614 (*Equus caballus*). *Anim. Cogn.* 11, 457–466. doi:10.1007/s10071-008-0136-5.
- 1615 Marsh, R., Alexander, G. M., Packard, M. G., Zhu, H., Wingard, J. C., Quackenbush, G., et al. (2004).
1616 Habit Learning in Tourette Syndrome. *Arch. Gen. Psychiatry* 61, 1259.
1617 doi:10.1001/archpsyc.61.12.1259.
- 1618 Mason, G. J. (1991). Stereotypies: a critical review. *Anim. Behav.* 41, 1015–1037.
1619 doi:10.1016/S00033472(05)80640-2.
- 1620 Mason, G. J., and Latham, N. (2004). Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable animal welfare
1621 indicator? *Anim. Welf.* 13, 57–69.
- 1622 Mason, W. . (1978). "Ontogeny of social systems," in *Recent advances in primatology*, eds. D. . Chivers
1623 and J. Herbert (San Diego), 5–14.
- 1624 McBride, S. D., and Hemmings, A. (2005). Altered mesoaccumbens and nigro-striatal dopamine
1625 physiology is associated with stereotypy development in a non-rodent species. *Behav. Brain Res.*
1626 159, 113–118. doi:10.1016/J.BBR.2004.10.014.
- 1627 McCall, C. ., and Burgin, S. . (2002). Equine utilization of secondary reinforcement during response
1628 extinction and acquisition. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 78, 253–262.
1629 doi:10.1016/S01681591(02)00109-0.
- 1630 Mccall, C. A. (2007). Making equine learning research applicable to training procedures. *Behav.*
1631 *Processes* 76, 27–28.
- 1632 McDonnell, S. M. (2000). How to rehabilitate horses with injection shyness (or any procedure
1633 noncompliance). *AEEP Procee* 46, 166–172.
- 1634 McGreevy, P. D., Cripps, P. J., French, N. P., Green, L. E., and Nicol, C. J. (1995). Management factors
1635 associated with stereotypic and redirected behaviour in the Thoroughbred horse. *Equine Vet. J.*
1636 27, 86–91. doi:10.1111/j.2042-3306.1995.tb03041.x.
- 1637 McGreevy, P. D., and Nicol, C. J. (1998). Prevention of crib-biting: a review. *Equine Vet. J.* 30, 35–38.
1638 doi:10.1111/j.2042-3306.1998.tb05143.x.

- 1639 McGreevy, P., and McLean, A. (2005). "The behavioural problems with the ridden horse," in *The*
1640 *domestic horse: The origins, development, and management of its behaviour*, ed. C. university
1641 Press, 196–211.
- 1642 McGreevy, P., McLean, A., Buckley, P., McConaghy, F., and McLean, C. (2011). How riding may affect
1643 welfare: What the equine veterinarian needs to know. *Equine Vet. Educ.* 23, 531–539.
1644 doi:10.1111/j.2042-3292.2010.00217.x.
- 1645 McKinley, J., Buchanan-Smith, H. M., Bassett, L., and Morris, K. (2003). Training common marmosets
1646 (*Callithrix jacchus*) to cooperate during routine laboratory procedures: ease of training and time
1647 investment. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 6, 209–220.
- 1648 McLean, A. N., and Christensen, J. W. (2017a). The application of learning theory in horse training. *Appl.*
1649 *Anim. Behav. Sci.* 190, 18–27. doi:10.1016/j.applanim.2017.02.020.
- 1650 McLean, A. N., and Christensen, J. W. (2017b). The application of learning theory in horse training. *Appl.*
1651 *Anim. Behav. Sci.* 190, 18–27. doi:10.1016/J.APPLANIM.2017.02.020.
- 1652 McLean, A. N., and McGreevy, P. D. (2010). Horse-training techniques that may defy the principles of
1653 learning theory and compromise welfare. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 5, 187–195.
1654 doi:10.1016/j.jveb.2010.04.002.
- 1655 Medin, D. L., and Smith, E. E. (1984). Concepts and Concept Formation. *Annu. Rev. Psychol.* 35, 113–
1656 138. doi:10.1146/annurev.ps.35.020184.000553.
- 1657 Mejdell, C. M., Buvik, T., Jørgensen, G. H. M., and Bøe, K. E. (2016). Horses can learn to use symbols to
1658 communicate their preferences. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 184, 66–73.
1659 doi:10.1016/j.applanim.2016.07.014.
- 1660 Mellen, J. D., and Ellis, S. (1996). "Animal learning and husbandry training," in *Wild mammals in*
1661 *captivity: Principles and techniques*.
- 1662 Mendl, M., Burman, O. H. P., Parker, R. M. A., and Paul, E. S. (2009). Cognitive bias as an indicator of
1663 animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. *Appl. Anim. Behav.*
1664 *Sci.* 118, 161–181. doi:10.1016/J.APPLANIM.2009.02.023.
- 1665 Mendl, M., Burman, O. H. P., and Paul, E. S. (2010). An integrative and functional framework for the
1666 study of animal emotion and mood. *Proceedings. Biol. Sci.* 277, 2895–904.
1667 doi:10.1098/rspb.2010.0303.
- 1668 Mills, D. (2000). Thoroughbred bedding preferences, associated behaviour differences and their
1669 implications for equine welfare. *Anim. Sci.* 70, 95–106. doi:10.1017/S1357729800051638.
- 1670 Mills, D. S. (2005). "Repetitive movement problems in the horse," in *The domestic horse: The origins,*
1671 *development, and management of its behaviour*, ed. Cambridge university press, 212–227.
- 1672 Moe, R. O., Bakken, M., Kittilsen, S., Kingsley-Smith, H., and Spruijt, B. M. (2006). A note on
1673 rewardrelated behaviour and emotional expressions in farmed silver foxes (*Vulpes vulpes*)—Basis
1674 for a novel tool to study animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 101, 362–368.
1675 doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.02.004.
- 1676 Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., et al. (2007).
1677 Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare.
1678 *Physiol. Behav.* 92, 317–339. doi:10.1016/J.PHYSBEH.2006.12.003.
- 1679 Murphy, J., and Arkins, S. (2007). Equine learning behaviour. *Behav. Processes* 76, 1–13.
1680 doi:10.1016/J.BEPROC.2006.06.009.

- 1681 Nagasawa, M., Mitsui, S., En, S., Ohtani, N., Ohta, M., Sakuma, Y., et al. (2015). Social evolution.
 1682 Oxytocin-gaze positive loop and the coevolution of human-dog bonds. *Science* 348, 333–6.
 1683 doi:10.1126/science.1261022.
- 1684 Nettle, D., and Bateson, M. (2012). The Evolutionary Origins of Mood and Its Disorders. *Curr. Biol.* 22,
 1685 R712–R721. doi:10.1016/J.CUB.2012.06.020.
- 1686 Nicol, C. (1999). Understanding equine stereotypies. *Equine Vet. J.* 31, 20–25.
 1687 doi:10.1111/j.20423306.1999.tb05151.x.
- 1688 Nicol, C. (2002). Equine learning: progress and suggestions for future research. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
 1689 78, 193–208. doi:10.1016/S0168-1591(02)00093-X.
- 1690 Nicol, C. J. (2005). “Learning abilities in the horse,” in *The domestic horse*, 169–183.
- 1691 Nisticò, G., Stephenson, J. D., Montanini, S., and Marmo, E. (1981). Behavioral and electrocortical
 1692 effects of beta-endorphin after intracerebral infusion in rats. *J. Med.* 12, 463–74. Available at:
 1693 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6274989> [Accessed September 5, 2018].
- 1694 Normando, S., Meers, L., Samuels, W. E., Faustini, M., and Ödberg, F. O. (2011). Variables affecting the
 1695 prevalence of behavioural problems in horses. Can riding style and other management factors be
 1696 significant? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 133, 186–198. doi:10.1016/J.APPLANIM.2011.06.012.
- 1697 Nurnberg, H. G., Keith, S. J., and Matt Paxton, D. (1997). Consideration of the relevance of ethological
 1698 animal models for human repetitive behavioral spectrum disorders. *Biol. Psychiatry* 41, 226–229.
 1699 doi:10.1016/S0006-3223(96)00100-X.
- 1700 Olds, J., and Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area
 1701 and other regions of rat brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 47, 419–427. doi:10.1037/h0058775.
- 1702 Pajor, E. , Rushen, J., and de Passillé, A. M. . (2000). Aversion learning techniques to evaluate dairy
 1703 cattle handling practices. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69, 89–102. doi:10.1016/S0168-1591(00)00119-
 1704 2.
- 1705 Pajor, E. , Rushen, J., and de Passillé, A. M. . (2003). Dairy cattle’s choice of handling treatments in a Y-
 1706 maze. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 93–107. doi:10.1016/S0168-1591(02)00119-3.
- 1707 Panksepp, J. (2005). Affective consciousness: Core emotional feelings in animals and humans.
 1708 *Conscious. Cogn.* 14, 30–80. doi:10.1016/J.CONCOG.2004.10.004.
- 1709 Parker, M., McBride, S. D., Redhead, E. S., and Goodwin, D. (2009). Differential place and response
 1710 learning in horses displaying an oral stereotypy. *Behav. Brain Res.* 200, 100–105.
 1711 doi:10.1016/J.BBR.2008.12.033.
- 1712 Parker, M., Redhead, E. S., Goodwin, D., and McBride, S. D. (2008). Impaired instrumental choice in
 1713 crib-biting horses (*Equus caballus*). *Behav. Brain Res.* 191, 137–140.
 1714 doi:10.1016/J.BBR.2008.03.009.
- 1715 Paul, E. S., Harding, E. J., and Mendl, M. (2005). Measuring emotional processes in animals: the utility
 1716 of a cognitive approach. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29, 469–491.
 1717 doi:10.1016/J.NEUBIOREV.2005.01.002.
- 1718 Pavlov, I. P. (1904). *The physiology of digestion. Nobel lecture (Physiology ore Medecine)*. Elsevier.
 1719 Amsterdam.
- 1720 Pavlov, I. P. (1927). *Conditional reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral*
 1721 *cortex.* , ed. Oxford university press.

- 1722 Pawluski, J., Jegou, P., Henry, S., Bruchet, A., Palme, R., Coste, C., et al. (2017). Low plasma cortisol and
 1723 fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses
 1724 (*Equus caballus*). *PLoS One* 12, e0182257. doi:10.1371/journal.pone.0182257.
- 1725 Peters, S. M., Bleijenberg, E. H., van Dierendonck, M. C., van der Harst, J. E., and Spruijt, B. M. (2012).
 1726 Characterization of anticipatory behaviour in domesticated horses (*Equus caballus*). *Appl. Anim.*
 1727 *Behav. Sci.* 138, 60–69. doi:10.1016/J.APPLANIM.2012.01.018.
- 1728 Pfister, J. A., Stegelmeier, B. L., Cheney, C. D., Ralphs, M. H., and Gardner, D. R. (2002). Conditioning
 1729 taste aversions to locoweed (*Oxytropis sericea*) in horses. *J Anim Sci USDA Natl Agric. Libr. March J.*
 1730 *Anim. Sci* 21, 79–83.
- 1731 Popescu, S., and Diugan, E.-A. (2013). The relationship between behavioral and other welfare indicators
 1732 of working horses. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 1–12. doi:10.1016/j.jevs.2012.04.001.
- 1733 Powell, S. B., Newman, H. A., Pendergast, J. F., and Lewis, M. H. (1999). A Rodent Model of Spontaneous
 1734 Stereotypy: Initial Characterization of Developmental, Environmental, and Neurobiological
 1735 Factors. *Physiol. Behav.* 66, 355–363. doi:10.1016/S0031-9384(98)00303-5.
- 1736 Price, J., Catriona, S., Welsh, E. M., and Waran, N. K. (2003). Preliminary evaluation of a behaviour–
 1737 based system for assessment of post–operative pain in horses following arthroscopic surgery.
 1738 *Vet. Anaesth. Analg.* 30, 124–137. doi:10.1046/j.1467-2995.2003.00139.x.
- 1739 Pritchard, J. C., Lindberg, A. C., Main, D. C. J., and Whay, H. R. (2005). Assessment of the welfare of
 1740 working horses, mules and donkeys, using health and behaviour parameters. *Prev. Vet. Med.* 69,
 1741 265–283. doi:10.1016/J.PREVETMED.2005.02.002.
- 1742 Proops, L., and McComb, K. (2010). Attributing attention: the use of human-given cues by domestic
 1743 horses (*Equus caballus*). *Anim. Cogn.* 13, 197–205. doi:10.1007/s10071-009-0257-5.
- 1744 Proops, L., and McComb, K. (2012). Cross-modal individual recognition in domestic horses (*Equus*
 1745 *caballus*) extends to familiar humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. Biol. Sci.* 279, 3131–8.
 1746 doi:10.1098/rspb.2012.0626.
- 1747 Ramirez, K. (2012). Marine mammal training: the history of training animals for medical behaviors and
 1748 keys to their success. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 15, 413–23.
 1749 doi:10.1016/j.cvex.2012.06.005.
- 1750 Reinhardt, V. (1991). Training adult male rhesus monkeys to actively cooperate during in-homecage
 1751 venipuncture. *Anim. Technol.* 42, 11–17.
- 1752 Reinhardt, V. (2003). Working With Rather Than Against Macaques During Blood Collection. *J. Appl.*
 1753 *Anim. Welf. Sci.* 6, 189–197.
- 1754 Reznikova, Z. (2007). *Animal intelligence: From individual to social cognition*. Cambridge. New York.
- 1755 Richelle, M. (1966). L'apprentissage sans erreur. *Annee. Psychol.* 66,
 1756 535–543. doi:10.3406/psy.1966.27531.
- 1757 Rivera, E., Benjamin, S., Nielsen, B., Shelle, J., and Zanella, A. J. (2002). Behavioral and physiological
 1758 responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses.
 1759 *Appl. Anim. Behav. Sci.* 78, 235–352.
- 1760 Rochais, C., Fureix, C., Lesimple, C., and Hausberger, M. (2016a). Lower attention to daily environment:
 1761 a novel cue for detecting chronic horses' back pain? *Sci. Rep.* 6, 20117. doi:10.1038/srep20117.

- 1762 Rochais, C., Henry, S., Fureix, C., and Hausberger, M. (2016b). Investigating attentional processes in
 1763 depressive-like domestic horses (*Equus caballus*). *Behav. Processes* 124, 93–96.
 1764 doi:10.1016/J.BEPROC.2015.12.010.
- 1765 Rochais, C., Henry, S., and Hausberger, M. (2017a). Spontaneous attention-capture by auditory
 1766 distractors as predictor of distractibility: a study of domestic horses (*Equus caballus*). *Sci. Rep.* 7,
 1767 15283. doi:10.1038/s41598-017-15654-5.
- 1768 Rochais, C., Henry, S., and Hausberger, M. (2018a). “Hay-bags” and “Slow feeders”: Testing their impact
 1769 on horse behaviour and welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 198, 52–59.
 1770 doi:10.1016/j.applanim.2017.09.019.
- 1771 Rochais, C., Henry, S., Sankey, C., Nassur, F., Góracka-Bruzda, A., and Hausberger, M. (2014). Visual
 1772 attention, an indicator of human-animal relationships? A study of domestic horses (*Equus*
 1773 *caballus*). *Front. Psychol.* 5, 108. doi:10.3389/fpsyg.2014.00108.
- 1774 Rochais, C., Sébilleau, M., Houdebine, M., Bec, P., Hausberger, M., and Henry, S. (2017b). A novel test
 1775 for evaluating horses’ spontaneous visual attention is predictive of attention in operant learning
 1776 tasks. *Sci. Nat.* 104, 61. doi:10.1007/s00114-017-1480-6.
- 1777 Rochais, C., Sébilleau, M., Menoret, M., Oger, M., Henry, S., Hausberger, M., et al. (2018b). Attentional
 1778 state and brain processes: state-dependent lateralization of EEG profiles in horses. *Sci. Rep.* 8,
 1779 10153. doi:10.1038/s41598-018-28334-9.
- 1780 Rogers, L., and Andrew, R. (2002). *Comparative Vertebrate Lateralization*. Cambridge.
- 1781 Rogers, L. J. (2010). Relevance of brain and behavioural lateralization to animal welfare. *Appl. Anim.*
 1782 *Behav. Sci.* 127, 1–11. doi:10.1016/J.APPLANIM.2010.06.008.
- 1783 Röhrs, V. M., and Ebinger, P. (1993). Progressive und regressive Hirngrößenveränderungen bei
 1784 Equiden. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 31, 233–239. doi:10.1111/j.1439-0469.1993.tb00192.x.
- 1785 Roitblat, H. L., and von Fersen, L. (1992). Comparative cognition: representations and processes in
 1786 learning and memory. *Annu. Rev. Psychol.* 43, 671–710.
 1787 doi:10.1146/annurev.ps.43.020192.003323.
- 1788 Rørvang, M. V., Ahrendt, L. P., and Christensen, J. W. (2015). Horses fail to use social learning when
 1789 solving spatial detour tasks. *Anim Cogn* 18, 847–854. doi:10.1007/s10071-015-0852-6.
- 1790 Rosenzweig, M. . (1976). *Biologie de la mémoire*. Presses un. Paris.
- 1791 Rosh, E. (1999). “Principles of categorization,” in *Concepts : core readings* (MIT Press), 652.
- 1792 Russell, J. A. (2003). Core affect and the psychological construction of emotion. *Psychol. Rev.* 110, 145–
 1793 172. doi:10.1037/0033-295X.110.1.145.
- 1794 Saltzman, I. J. (1949). Maze learning in the absence of primary reinforcement: a study of secondary
 1795 reinforcement. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 42, 161–173. doi:10.1037/h0059466.
- 1796 Sankey, C., Henry, S., André, N., Richard-Yris, M.-A., and Hausberger, M. (2011a). Do Horses Have a
 1797 Concept of Person? *PLoS One* 6, e18331. doi:10.1371/journal.pone.0018331.
- 1798 Sankey, C., Henry, S., Clouard, C., Richard-Yris, M.-A., and Hausberger, M. (2011b). Asymmetry of
 1799 behavioral responses to a human approach in young naive vs. trained horses. *Physiol. Behav.* 104,
 1800 464–468. doi:10.1016/J.PHYSBEH.2011.05.009.

- 1801 Sankey, C., Henry, S., Górecka-Bruzda, A., Richard-Yris, M.-A., and Hausberger, M. (2010a). The Way to
1802 a Man's Heart Is through His Stomach: What about Horses? *PLoS One* 5, e15446.
1803 doi:10.1371/journal.pone.0015446.
- 1804 Sankey, C., Richard-Yris, M.-A., Henry, S., Fureix, C., Nassur, F., and Hausberger, M. (2010b).
1805 Reinforcement as a mediator of the perception of humans by horses (*Equus caballus*). *Anim.*
1806 *Cogn.* 13, 753–765. doi:10.1007/s10071-010-0326-9.
- 1807 Sankey, C., Richard-Yris, M.-A., Leroy, H., Henry, S., and Hausberger, M. (2010c). Positive interactions
1808 lead to lasting positive memories in horses, *Equus caballus*. *Anim. Behav.* 79, 869–875.
1809 doi:10.1016/J.ANBEHAV.2009.12.037.
- 1810 Sappington, B. K. F., McCall, C. A., Coleman, D. A., Kuhlers, D. L., and Lishak, R. S. (1997). A preliminary
1811 study of the relationship between discrimination reversal learning and performance tasks in
1812 yearling and 2-year-old horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 53, 157–166.
1813 doi:10.1016/S01681591(96)01157-4.
- 1814 Saslow, C. A. (2002). Understanding the perceptual world of horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 78, 209–
1815 224. doi:10.1016/S0168-1591(02)00092-8.
- 1816 Schmidt, A., Aurich, J., Möstl, E., Müller, J., and Aurich, C. (2010). Changes in cortisol release and heart
1817 rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses. *Horm. Behav.*
1818 58, 628–636. doi:10.1016/J.YHBEH.2010.06.011.
- 1819 Selye, H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138, 32.
- 1820 Shettleworth, S. (1998). *Cognition, evolution and behavior*. New York :
- 1821 Shettleworth, S. J. (2010). *Cognition, evolution, and behavior*. Oxford University Press.
- 1822 Singer, H. S. (2005). Tourette's syndrome: from behaviour to biology. *Lancet Neurol.* 4, 149–159.
1823 doi:10.1016/S1474-4422(05)01012-4.
- 1824 Skinner, B. F. (1938). *The behaviour of organisms.* , ed. N.-Y. Appleton-Century- Crofts.
- 1825 Skinner, B. F. (1976). *About Behaviourism*. Jonathan C.
- 1826 Slater, C., and Dymond, S. (2011). Using differential reinforcement to improve equine welfare: Shaping
1827 appropriate truck loading and feet handling. *Behav. Processes* 86, 329–339.
1828 doi:10.1016/J.BEPROC.2011.02.001.
- 1829 Slotow, R., van Dyk, G., Poole, J., Page, B., and Klocke, A. (2000). Older bull elephants control young
1830 males. *Nature* 408, 425–426. doi:10.1038/35044191.
- 1831 Smith, A. V., Proops, L., Grounds, K., Wathan, J., and McComb, K. (2016). Functionally relevant
1832 responses to human facial expressions of emotion in the domestic horse (*Equus caballus*). *Biol.*
1833 *Lett.* 12, 20150907. doi:10.1098/rsbl.2015.0907.
- 1834 Sohlberg, M. M., and Mateer, C. A. (2001). Improving Attention and Managing Attentional Problems.
1835 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 931, 359–375. doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb05790.x.
- 1836 Søndergaard, E., Bak Jensen, M., and Nicol, C. J. (2011). Motivation for social contact in horses
1837 measured by operant conditioning. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 132, 131–137.
1838 doi:10.1016/j.applanim.2011.04.007.
- 1839 Søndergaard, E., and Halekoh, U. (2003). Young horses' reactions to humans in relation to handling and
1840 social environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 84, 265–280.
1841 doi:10.1016/J.APPLANIM.2003.08.011.

- 1842 Søndergaard, E., and Ladewig, J. (2004). Group housing exerts a positive effect on the behaviour of
1843 young horses during training. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 105–118.
1844 doi:10.1016/J.APPLANIM.2003.12.010.
- 1845 Sousa, C., and Matsuzawa, T. (2001). The use of tokens as rewards and tools by chimpanzees (Pan
1846 troglodytes). *Anim. Cogn.* 4, 213–221. doi:10.1007/s100710100104.
- 1847 Spruijt, B. M., van den Bos, R., and Pijlman, F. T. A. (2001). A concept of welfare based on reward
1848 evaluating mechanisms in the brain: anticipatory behaviour as an indicator for the state of reward
1849 systems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 72, 145–171. doi:10.1016/S0168-1591(00)00204-5.
- 1850 Staddon, J. E. . (1983). *Adaptive behaviour and learning*. Cambridge.
- 1851 Stewart, M., Foster, T. ., and Waas, J. . (2003). The effects of air transport on the behaviour and heart
1852 rate of horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 143–160. doi:10.1016/S0168-1591(02)00212-5.
- 1853 Stomp, M., Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., and Hausberger, M. (2018). An unexpected
1854 acoustic indicator of positive emotions in horses. *PLoS One* 13, e0197898.
1855 doi:10.1371/journal.pone.0197898.
- 1856 Storch, K.-F., and Weitz, C. J. (2009). Daily rhythms of food-anticipatory behavioral activity do not
1857 require the known circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 6808–13.
1858 doi:10.1073/pnas.0902063106.
- 1859 Stukenborg, A., Traulsen, I., Puppe, B., Presuhn, U., and Krieter, J. (2011). Agonistic behaviour after
1860 mixing in pigs under commercial farm conditions. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 129, 28–35.
1861 doi:10.1016/J.APPLANIM.2010.10.004.
- 1862 Swann, W. J. (2006). Improving the welfare of working equine animals in developing countries. *Appl.*
1863 *Anim. Behav. Sci.* 100, 148–151. doi:10.1016/J.APPLANIM.2006.04.001.
- 1864 Symes, C. T., and Perrin, M. R. (2003). Feeding biology of the Greyheaded Parrot, *Poicephalus fuscicollis*
1865 *suaehelicus* (Reichenow), in Northern Province, South Africa. *Emu - Austral Ornithol.* 103, 49–58.
1866 doi:10.1071/MU01038.
- 1867 Takai, N., Yamaguchi, M., Aragaki, T., Eto, K., Uchihashi, K., and Nishikawa, Y. (2004). Effect of
1868 psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults. *Arch. Oral*
1869 *Biol.* 49, 963–968. doi:10.1016/J.ARCHORALBIO.2004.06.007.
- 1870 Tallet, C., Brajon, S., Devillers, N., and Lensink, J. (2018). “Pig–human interactions,” in *Advances in Pig*
1871 *Welfare* (Elsevier), 381–398. doi:10.1016/B978-0-08-101012-9.00008-3.
- 1872 Taylor, J. G., and Fragopanagos, N. F. (2005). The interaction of attention and emotion. *Neural*
1873 *Networks* 18, 353–369. doi:10.1016/J.NEUNET.2005.03.005.
- 1874 Thierry, B., Mewa Singh., and Kaumanns, W. (2004). *Macaque societies : a model for the study of social*
1875 *organization*. Cambridge University Press.
- 1876 Thorndike, E. . (1898). An experimental study of the associate processes in animals. *Psychol. Rev.* 2, 1–
1877 8.
- 1878 Toates, F. . (1995). *Stress: Conceptual And Biological Aspects*. Chichester.
- 1879 Tolman, E. ., and Honzik, C. . (1930). Introduction and removal of reward, and maze performance in
1880 rats. *Univ. Calif. Publ. Psychol.* 4, 257–275.
- 1881 Topál, J., Miklósi, Á., and Csányi, V. (1997). Dog-human relationship affects problem solving behavior
1882 in the dog. *Anthrozoos* 10, 214–224.

- 1883 Uller, C., and Lewis, J. (2009). Horses (*Equus caballus*) select the greater of two quantities in small
1884 numerical contrasts. *Anim. Cogn.* 12, 733–738. doi:10.1007/s10071-009-0225-0.
- 1885 Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Leterrier, C., and Lansade, L. (2013a). Stress and temperament
1886 affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*. *Anim.*
1887 *Behav.* 86, 1233–1240. doi:10.1016/J.ANBEHAV.2013.09.026.
- 1888 Valenchon, M., Lévy, F., Górecka-Bruzda, A., Calandreau, L., and Lansade, L. (2013b). Characterization
1889 of long-term memory, resistance to extinction, and influence of temperament during two
1890 instrumental tasks in horses. *Anim Cogn* 16, 1001–1006. doi:10.1007/s10071-013-0648-5.
- 1891 Valenchon, M., Lévy, F., Moussu, C., and Lansade, L. (2017). Stress affects instrumental learning based
1892 on positive or negative reinforcement in interaction with personality in domestic horses. *PLoS*
1893 *One* 12, e0170783. doi:10.1371/journal.pone.0170783.
- 1894 Valenchon, M., Lévy, F., Prunier, A., Moussu, C., Calandreau, L., and Lansade, L. (2013c). Stress
1895 Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with
1896 Temperament. *PLoS One* 8, e62324. doi:10.1371/journal.pone.0062324.
- 1897 Vallortigara, G., and Rogers, L. J. (2005). Survival with an asymmetrical brain: Advantages and
1898 disadvantages of cerebral lateralization. *Behav. Brain Sci.* 28, 575–633.
- 1899 van Rooijen, J. (1982). The value of choice tests in assessing welfare of domestic animals. *Appl. Anim.*
1900 *Ethol.* 8, 295–299.
- 1901 VanDierendonck, M. C., de Vries, H., Schilder, M. B. H., Colenbrander, B., Þorhallsdóttir, A. G., and
1902 Sigurjónsdóttir, H. (2009). Interventions in social behaviour in a herd of mares and geldings. *Appl.*
1903 *Anim. Behav. Sci.* 116, 67–73. doi:10.1016/J.APPLANIM.2008.07.003.
- 1904 Vasconcellos, A. da S., Virányi, Z., Range, F., Ades, C., Scheidegger, J. K., Möstl, E., et al. (2016). Training
1905 Reduces Stress in Human-Socialised Wolves to the Same Degree as in Dogs. *PLoS One* 11,
1906 e0162389. doi:10.1371/journal.pone.0162389.
- 1907 Vinke, C. M., Van Den, R. B., and Spruijt, B. M. (2004). Anticipatory activity and stereotypical behaviour
1908 in American mink (*Mustela vison*) in three housing systems differing in the amount of
1909 enrichments. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 89, 145–161. doi:10.1016/J.APPLANIM.2004.06.002.
- 1910 Visser, E. ., van Reenen, C. ., Schilder, M. B. ., Barneveld, A., and Blokhuis, H. . (2003). Learning
1911 performances in young horses using two different learning tests. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 311–
1912 326. doi:10.1016/S0168-1591(02)00235-6.
- 1913 Visser, E. K., Ellis, A. D., and Van Reenen, C. G. (2008). The effect of two different housing conditions
1914 on the welfare of young horses stabled for the first time. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114, 521–533.
1915 doi:10.1016/J.APPLANIM.2008.03.003.
- 1916 Visser, E. K., VanDierendonck, M., Ellis, A. D., Rijksen, C., and Van Reenen, C. G. (2009). A comparison
1917 of sympathetic and conventional training methods on responses to initial horse training. *Vet. J.*
1918 181, 48–52. doi:10.1016/J.TVJL.2009.03.009.
- 1919 von Borell, E., Langbein, J., Després, G., Hansen, S., Leterrier, C., Marchant-Forde, J., et al. (2007). Heart
1920 rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and
1921 welfare in farm animals — A review. *Physiol. Behav.* 92, 293–316.
1922 doi:10.1016/J.PHYSBEH.2007.01.007.
- 1923 von Uexküll (1965). *Monde Animaux et Monde Humain, suivi de la Theorie de la Signification*. Gonthier.
1924 Paris.

- 1925 Waiblinger, S., Boivin, X., Pedersen, V., Tosi, M.-V., Janczak, A. M., Visser, E. K., et al. (2006). Assessing
 1926 the human–animal relationship in farmed species: A critical review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 101,
 1927 185–242. doi:10.1016/j.applanim.2006.02.001.
- 1928 Wang, Y. (2009). “Formal Description of the Cognitive Process of Memorization,” in (Springer, Berlin,
 1929 Heidelberg), 81–98. doi:10.1007/978-3-642-02097-1_5.
- 1930 Waring, G. H. (2003). Horse behavior. The behavioral traits and adaptations of domestic and wild
 1931 horses, including ponies. *Horse Behav. Behav. Trait. Adapt. Domest. wild horses, Incl. ponies.*
- 1932 Warren-Smith, A. K., and McGreevy, P. D. (2007). The use of blended positive and negative
 1933 reinforcement in shaping the halt response of horses (*Equus caballus*). *Anim. Welf.* 16, 481.
- 1934 Warren-Smith, A. K., and McGreevy, P. D. (2008). Preliminary Investigations Into the Ethological
 1935 Relevance of Round-Pen (Round-Yard) Training of Horses. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 11, 285–298.
 1936 doi:10.1080/10888700802101304.
- 1937 Waters, A. J., Nicol, C. J., and French, N. P. (2002). Factors influencing the development of stereotypic
 1938 and redirected behaviours in young horses: findings of a four year prospective epidemiological
 1939 study. *Equine Vet. J.* 34, 572–579. doi:10.2746/042516402776180241.
- 1940 Wathan, J., and McComb, K. (2014). The eyes and ears are visual indicators of attention in domestic
 1941 horses. *Curr. Biol.* 24, R677–R679. doi:10.1016/J.CUB.2014.06.023.
- 1942 Watson, J. C., and McDonnell, S. M. (2018). Effects of three non-confrontational handling techniques
 1943 on the behavior of horses during a simulated mildly aversive veterinary procedure. *Appl. Anim.
 1944 Behav. Sci.* 203, 19–23. doi:10.1016/J.APPLANIM.2018.02.007.
- 1945 Watters, J. V. (2014). Searching for behavioral indicators of welfare in zoos: Uncovering anticipatory
 1946 behavior. *Zoo Biol.* 33, 251–256. doi:10.1002/zoo.21144.
- 1947 Whay, H., Main, D., Green, L., and Webster, A. (2003). Observations and investigation of farm. *Vet. Rec.*
 1948 153, 197–202.
- 1949 Whisher, L., Raum, M., Pina, L., Pérez, L., Erb, H., Houpt, C., et al. (2011). Effects of environmental
 1950 factors on cribbing activity by horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 135, 63–69.
 1951 doi:10.1016/J.APPLANIM.2011.09.001.
- 1952 Wolff, A., and Hausberger, M. (1996). Learning and memorisation of two different tasks in horses: the
 1953 effects of age, sex and sire. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 46, 137–143.
 1954 doi:10.1016/01681591(95)00659-1.
- 1955 Wolff, A., Hausberger, M., and Le Scolan, N. (1997). Experimental tests to assess emotionality in horses.
 1956 *Behav. Processes* 40, 209–221. doi:10.1016/S0376-6357(97)00784-5.
- 1957 Wood, J. . (1998). Quality assurance schemes. *Meat Sci.* 49, 191–203.
- 1958 Yoerg, S., and Kamil, A. (1991). “Integrating cognitive ethology with cognitive psychology,” in *Cognitive
 1959 ethology : the minds of other animals : essays in honor of Donald R. Griffin* (L. Erlbaum Associates),
 1960 332.
- 1961 Zimmerman, D. W. (1957). Durable secondary reinforcement: Method and theory. *Psychol. Rev.* 64,
 1962 373–383. doi:10.1037/h0041885.
- 1963

1964 **Figures captions**

1965 Fig. 1: a) Correlation between the success of memorization of the instrumental task (time required to
1966 open the chest in seconds) and the time required to cross the bridge during the “bridge test” (in
1967 seconds), Spearman correlation, $P < 0.0001$, $r = 0.40$; b)) Correlation between the success of
1968 memorization of the instrumental task (time required to open the chest in seconds) and the
1969 emotionality index (composite score) measured from the responses towards a novel object, Spearman
1970 correlation, $P = 0.69$, $r = -0.04$; observed in 87 French saddlebred adult sport horses (from data of
1971 (Hausberger et al., 2011)).

1972 Fig. 2 : Number of training sessions required to successfully perform the steps included in the young
1973 horses training scheme, i.e. being haltered, saddled, lunged and mounted outdoors for horses that had
1974 previously undergone initial ground training with positive reinforcement (PR) or no reinforcement (C)
1975 (Mann-Whitney U-test: $P \leq 0.05$) (from data of Sankey et al., 2010c).

1976 Fig. 3: Average time (seconds \pm SE) spent (a) monitoring and (b) gazing at the trainer by horses from
1977 Positive Reinforcement (PR, N=8, Friedman test $P < 0.05$) and Control (C, N=7, Friedman test $P < 0.05$)
1978 treatments during the trials on the five training days (from data of Sankey et al., 2010c). Differences
1979 between groups are significant on days 4 and 5 (Mann-Whitney U-test $P < 0.05$).

Figure 405.JPEG

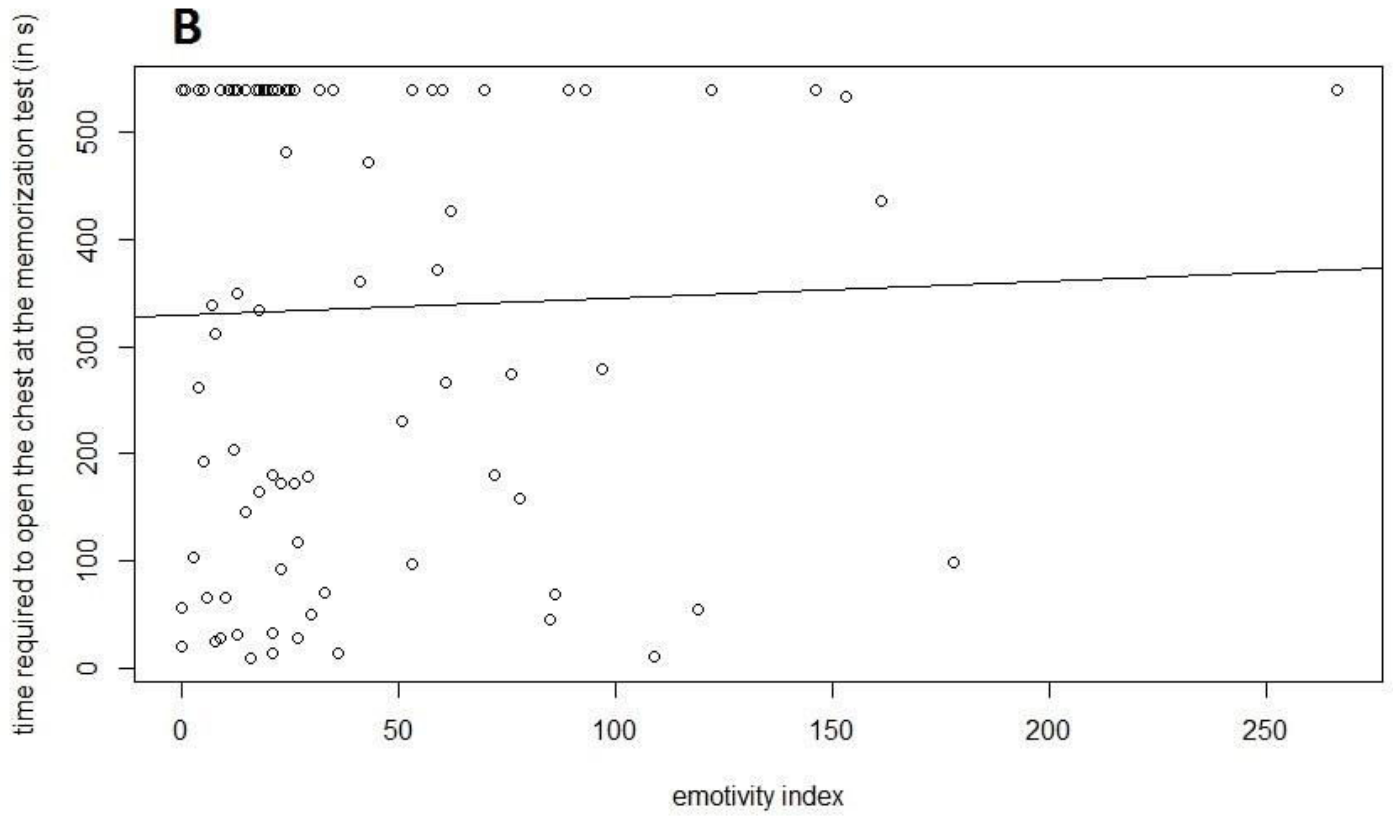
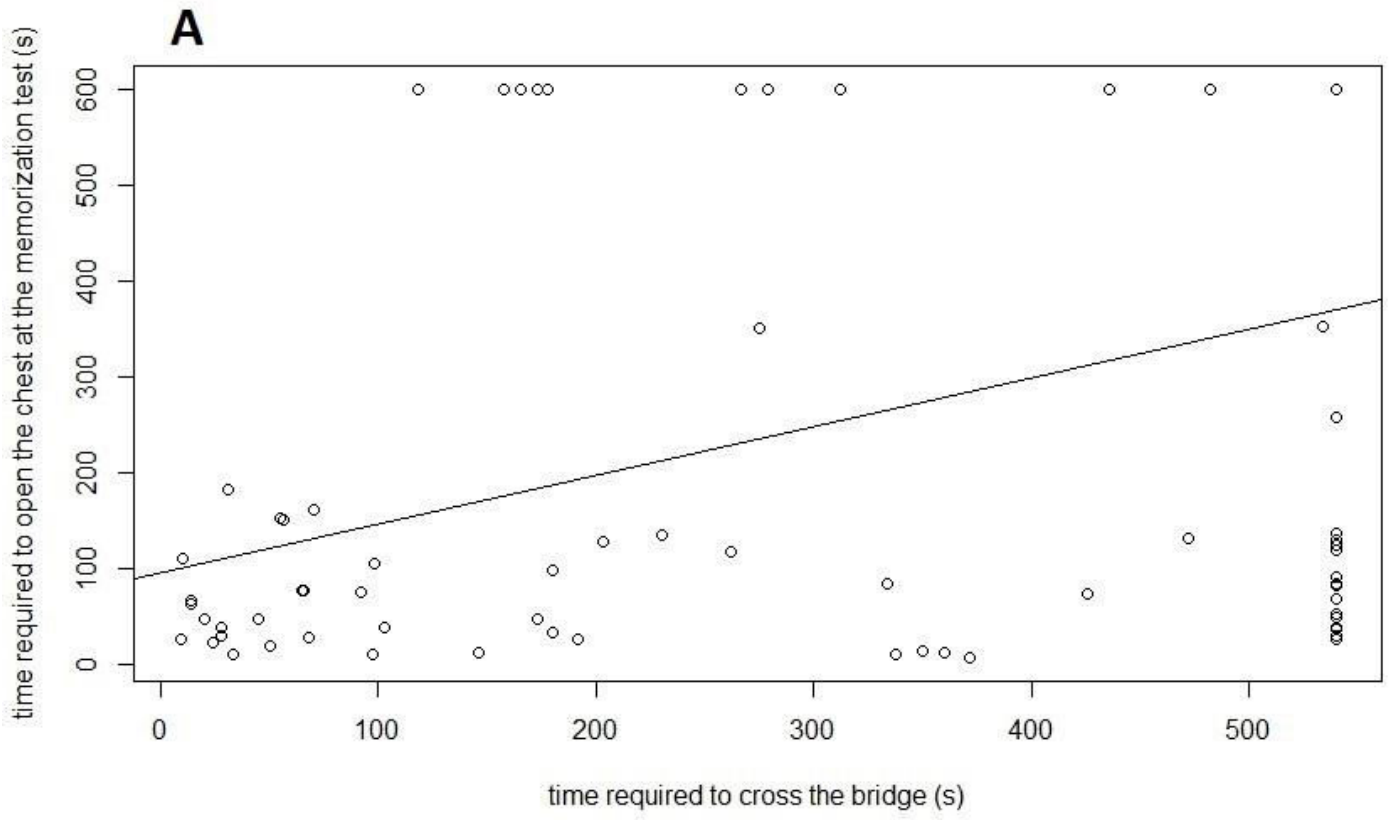
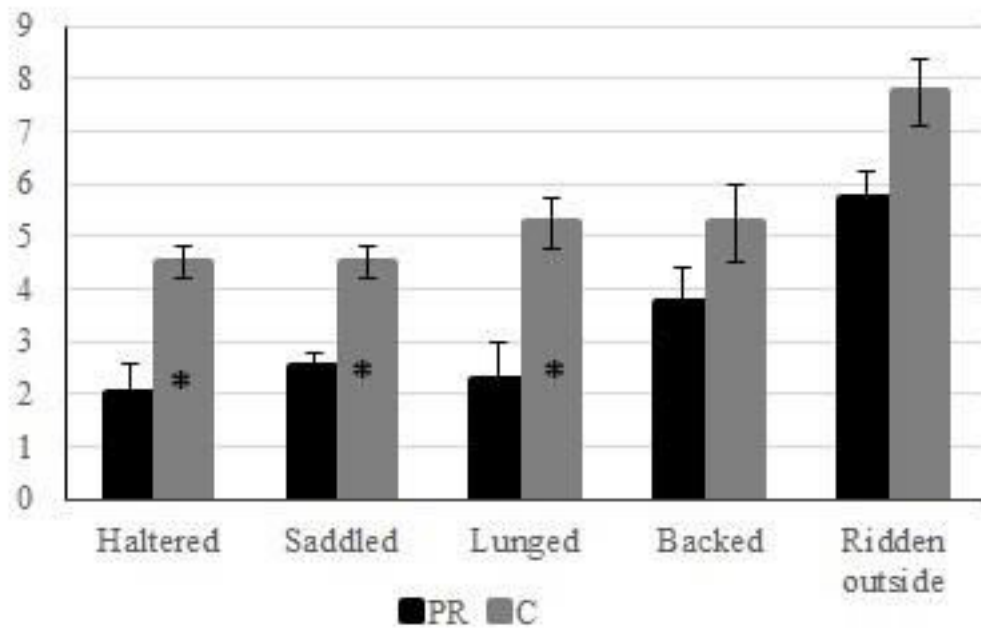
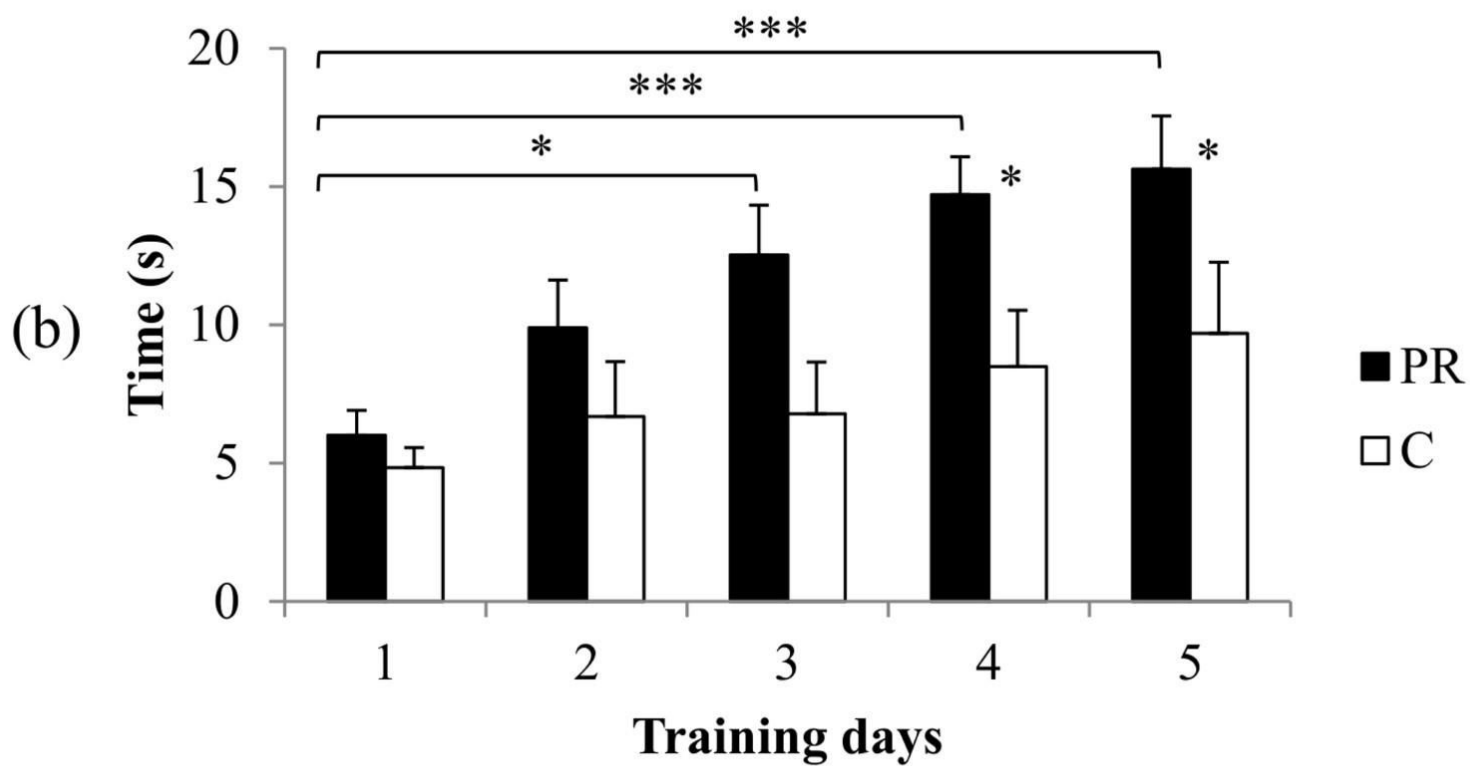
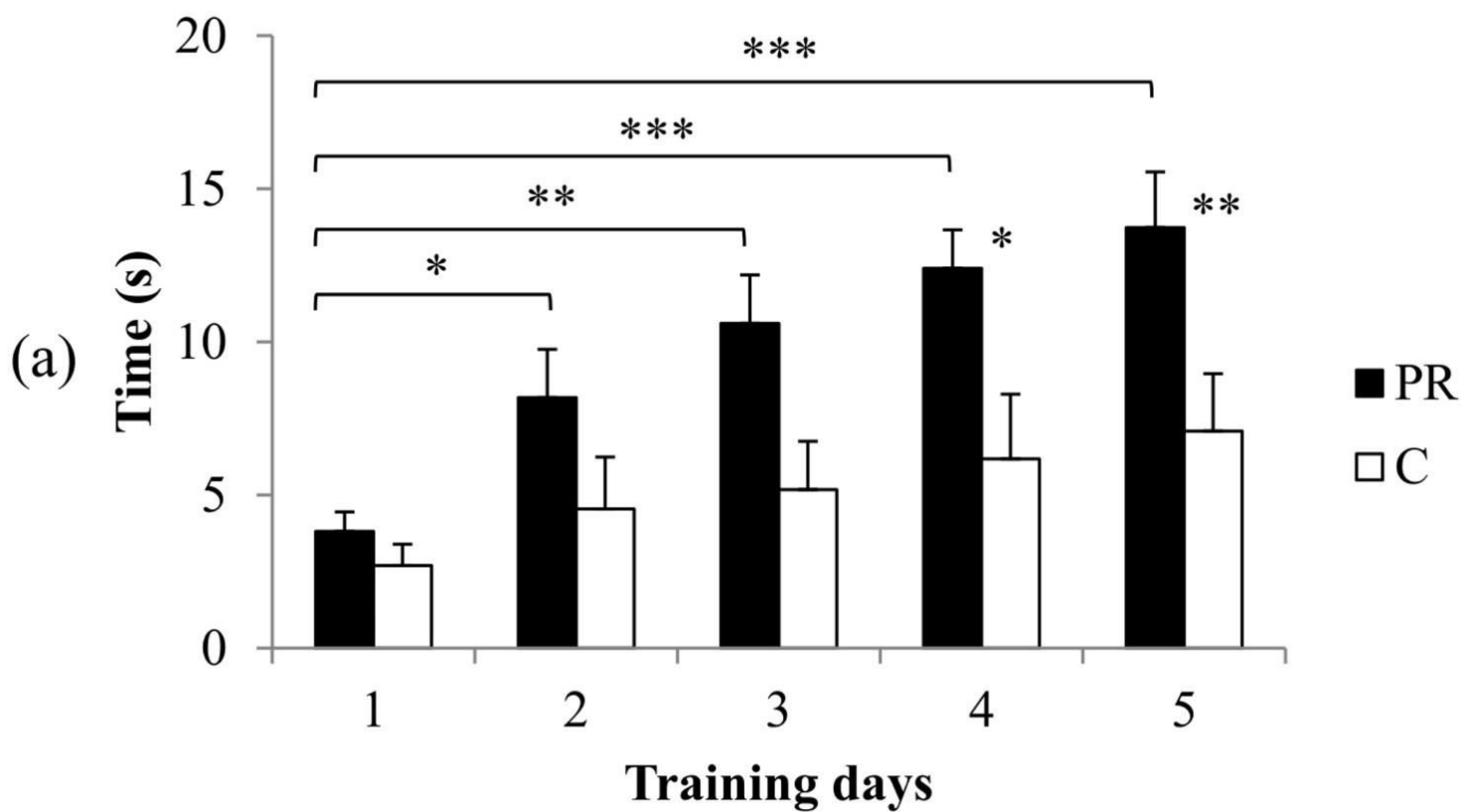


Figure 406.JPEG





ANNEXE 3

Bilan professionnel

Bilan professionnel

Liste des publications

Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

1. Rivière, J., **Stomp, M.**, Augustin, E., Lemasson, A., & Blois-Heulin, C. (2017). Decision-making under risk of gain in young children and mangabey monkeys. *Developmental psychobiology*, 60(2), 176-186.
2. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., & Hausberger, M. (2018). An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses. *PloS one*, 13(7), e0197898.
3. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Hausberger, M., & Lemasson, A. (2018). Snort acoustic structure codes for positive emotions in horses. *The Science of Nature*, 105(9-10), 57

Publications en révision ou soumises

1. **Stomp, M.**, Hazard, A., Louazon, S., Henry, S., & Hausberger, M. Effects of human audience and welfare state on horses' visual attentional characteristics.

2. Hausberger, M., Sankey, C., **Stomp, M.**, Brajon, S., Lunel, C., & Henry, S. Cognition and welfare in horses: a review.

Manuscrits en préparation

1. **Stomp, M.**, Ragonnaud, R., Baffray, C., Hausberger, M., & Henry, S. The influence of feeding schedule on horses' activity: evidence from accelerometers.

2. **Stomp, M.**, Lesimple, C., Henry, S., & Hausberger, M. Are anticipatory behaviours reliable indicators of positive emotions? A study in domestic horses.

3. **Stomp, M.**, Ragonnaud, R., d'Ingeo, S., Le Bagousse, S., Henry, S., Cousillas, H., & Hausberger, M. EEG profiles reflect perceived valence of visual stimuli in horses.

4. **Stomp, M.**, Masson, A., Dufour, C., Henry, S., Hausberger, M., & Lesimple, C. Could snorts inform us on how horses perceive riding?

Publications (avec comité de lecture) dans des actes de colloque

1. Hausberger, M., Rochais, C., Henry, S., **Stomp, M.**, Lesimple, C. & Cousillas, H. (2016). Quand le cheval va bien : état des lieux sur les indicateurs de bien-être. 42ème journées de la Recherche Equine. Paris, Institut Français du Cheval et de l'Équitation. Journées de la Recherche Equine, p69-78.

2. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., & Hausberger, M. (2018). Un indicateur acoustique inattendu d'émotions positives chez le cheval ?

44ème Journée de la recherche équine, Paris, Institut Français du Cheval et de l'Équitation, p24-31.

Communications

Communications orales dans des colloques internationaux

1. Stomp, M., Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., Hausberger, M. (2017) “An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses”. 35th International Ethological Conference (IEC), Estoril, (Portugal). July 30th - August 4, 2017.

2. Stomp, M., Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., Hausberger, M. (2018) “An unexpected acoustic indicator of positive emotions in horses”. Congress of the International Society for Applied Ethology (ISAE), Charlottetown, Prince Edward Island (Canada). July 30th - August 3rd, 2018.

Communications affichées dans des colloques internationaux

1. **Stomp, M.**, Henry, S., Hausberger, M. (2016) “Are positive emotions reliable indicators of welfare in horses?” International workshop on Animal and Human Emotions, Erice, (Italy). 17th - 22th May 2016

2. **Stomp, M.**, Henry, S., Hausberger, M. (2017) “Are positive emotions reliable indicators of welfare in horses?” UFAW International Animal Welfare Symposium, London, (United Kingdom). June 27th - 29th, 2017.

Communications orales dans des colloques nationaux

1. Hausberger, M., Rochais, C., Henry, S., **Stomp, M.**, Lesimple, C., Cousillas, H. (2016). « Quand le cheval va bien ? Etat des lieux sur les indicateurs de bien-être ». 42ème Journée de la Recherche Équine, Paris (France), pp 69–78

2. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., Hausberger, M. (2017). « Un indicateur acoustique inattendu d'émotions positives chez le cheval? ». RMT "Bien-être animal : de la théorie à la pratique", Agrocampus Rennes. 12-14 décembre 2017.

3. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., Hausberger, M. (2017). « Un indicateur acoustique inattendu d'émotions positives chez le cheval? ». 44ème Journée de la recherche équine, Institut français du cheval et de l'équitation, Paris. 15 mars 2018.

4. **Stomp, M.**, Leroux, M., Cellier, M., Henry, S., Lemasson, A., Hausberger, M. (2018). « Un indicateur acoustique inattendu d'émotions positives chez le cheval? ». Journées annuelles de la SFECA, Rennes. 19-21 Juin 2018.

Activités d'enseignement

Enseignement à l'université

Année 2016/2017 : Mission d'enseignement (64h Travaux Pratiques Ethologie)

-L1 Biologie des organismes, écologie, évolution, éthologie : enseignement « système nerveux et comportement »

-L2 Biologie des organismes, écologie, évolution, éthologie : enseignement « l'animal dans son milieu »

-L3 Psychologie : enseignement « chronobiologie du comportement »

Enseignement aux professionnels de la filière équine

Mars 2018 : Diplôme universitaire du Cheval (1h) : Les ébrouements comme indicateur d'émotions positives chez le cheval.

Activités d'encadrement

- Co-encadrement de stage de master 2 « Comportement animal et humain »

Baffray, C. « L'anticipation alimentaire reflète-t-elle vraiment l'expression d'émotions positives? Une étude chez le cheval domestique (*Equus caballus*) ». Janvier-Juin 2018.

Ragonnaud, R. « Caractérisation du comportement d'anticipation chez le cheval domestique (*Equus caballus*) : approche comportementale et neurophysiologique ». Janvier-Juin 2017.

- Co-encadrement de stage de master 1 « Comportement animal et humain »

Hazard, A. « Influence de la présence humaine sur l'attention du cheval domestique (*Equus caballus*) ». Avril-Juin 2018.

Leroux, M. « Des signaux acoustiques indicateurs de bien-être chez le cheval domestique (*Equus caballus*) ». Avril-Juin 2016.

- Co-encadrement de stage de Licence

Masson, A. « Production des ébrouements au cours de séances d'équitation ». Juillet-Août 2018.

Savagnier, S. « Production des ébrouements au cours de séances d'équitation ». Juin 2018.

Responsabilités collectives

Mars 2017-Octobre 2018 : Représentante du collège doctoral, post-doctoral et ATER, conseil d'unité, laboratoire EthoS, Rennes.

Résumé

L'évaluation des émotions positives chez l'animal est encore délicate. Pourtant, de nombreuses évidences démontrent l'intérêt de favoriser l'expression de ces émotions, notamment dans le but d'améliorer le bien-être des individus. Cette recherche vise à valider et identifier des indicateurs d'émotions positives chez le cheval. Dans un premier temps, une étude expérimentale basée sur l'utilisation d'accéléromètres, tout comme l'observation d'épisodes d'anticipation alimentaire quotidiens en centre équestre, ont permis d'identifier le déclenchement de l'anticipation et de mieux caractériser les comportements exprimés dans ce cadre. Nos résultats dévoilent que les comportements d'anticipation reflètent davantage un état de frustration. Ils ne constituent donc pas un indicateur fiable d'émotions positives. En revanche, une augmentation d'intensité de ces comportements semble indiquer un état de mal-être. Puis, en nous appuyant sur l'utilisation d'un casque permettant la mesure de l'activité électroencéphalographique chez des chevaux éveillés et libres de leurs mouvements, nous avons pu (i) confirmer l'importance de l'hémisphère gauche dans le traitement des émotions positives et de l'hémisphère droit dans le traitement attentionnel, (ii) mettre en évidence le rôle majeur des ondes thêta lors d'un traitement cognitif attentionnel, (iii) souligner l'interaction des processus émotionnels et attentionnels chez le cheval. Par ailleurs, si le test classique d'attention visuelle (VAT) constitue un bon outil de mesure des capacités attentionnelles d'un cheval au travail, ce même test réalisé sans humain apparaît être un outil novateur de mesure de l'état de bien-être. Enfin, l'étude de la production de sons non-vocaux, basée sur une approche comparative combinant l'observation de chevaux de centre équestre et des chevaux vivant en condition semi-naturelle (favorable au bien-être), a révélé que l'ébrouement (hors contrainte respiratoire liée à une maladie ou à un équipement mal ajusté) serait un marqueur fiable d'émotions positives d'intensité modérée chez le cheval, puisqu'il exprimerait que ce dernier perçoit de façon positive son environnement. L'ensemble des recherches menées dans ce travail ouvrent vers des perspectives d'applications intéressantes dans le milieu équin, mais aussi d'un point de vue fondamental et méthodologique.

Mots clés : Cheval domestique, émotions positives, bien-être, indicateur, attention, comportements d'anticipation, signaux acoustiques.

Abstract

Indicators of positive emotions in animals are still scarce. However, many studies showed that favour these emotions is a promising way to improve individual welfare state. This study aims to validate and identify some indicators of positive emotions in horses. First, based both on an experimental study using accelerometers and the observation of riding school horses during their regular feeding time, we characterized anticipatory behaviours in this specie and showed that they were triggered by an environmental cue. Moreover, anticipatory behaviours were associated with frustration and thus were not reliable indicators of positive emotions. However, an increase of their intensity may reflect a poor welfare state. Then, the use of an EEG helmet designed for awake horses free from their movements, allowed us to (i) confirm the left-hemisphere bias for positive emotions processes and the right hemisphere bias for attentional processes, (ii) highlight the implication of theta waves in cognitive attentional processes, (iii) underline interactions between attentional and emotional processes in horses. Moreover, we showed that the measures of attentional characteristics thanks to a visual attention test (VAT) was useful to define attentional capacities at work. The same test conducted without a human was rather useful to evaluate the horses' welfare state. Finally, a comparative approach based on the observation of horses living either in restricted or in naturalistic conditions revealed that snort (out of breathing difficulties due to illness or poorly fitting equipment) could be a reliable indicator of positive emotions of low intensity as it would be the expression of the horses' positive appraisal of a situation. This works opens up promising fundamental and applied perspectives and applications.

Key words: domestic horse, positive emotions, welfare, indicator, attention, anticipatory behaviours, acoustic signals.

Titre : Attention et positivisme au cœur du bien-être chez le cheval.

Mots clés : Cheval domestique, émotions positives, bien-être, indicateur, attention, comportements d'anticipation, signaux acoustiques.

Résumé : L'évaluation des émotions positives chez l'animal est encore délicate. Pourtant, de nombreuses évidences démontrent l'intérêt de favoriser l'expression de ces émotions, notamment dans le but d'améliorer le bien-être des individus. Cette recherche vise à valider et identifier des indicateurs d'émotions positives chez le cheval. Dans un premier temps, une étude expérimentale basée sur l'utilisation d'accéléromètres, tout comme l'observation d'épisodes d'anticipation alimentaire quotidiens en centre équestre, ont permis d'identifier le déclenchement de l'anticipation et de mieux caractériser les comportements exprimés dans ce cadre. Nos résultats dévoilent que les comportements d'anticipation reflètent davantage un état de frustration. Ils ne constituent donc pas un indicateur fiable d'émotions positives. En revanche, une augmentation d'intensité de ces comportements semble indiquer un état de mal-être. Puis, en nous appuyant sur l'utilisation d'un casque permettant la mesure de l'activité électroencéphalographique chez des chevaux éveillés et libres de leurs mouvements, nous avons pu (i) confirmer l'importance de l'hémisphère gauche dans le traitement des émotions positives et de l'hémisphère droit dans le

traitement attentionnel, (ii) mettre en évidence le rôle majeur des ondes thêta lors d'un traitement cognitif attentionnel, (iii) souligner l'interaction des processus émotionnels et attentionnels chez le cheval. Par ailleurs, si le test classique d'attention visuelle (VAT) constitue un bon outil de mesure des capacités attentionnelles d'un cheval au travail, ce même test réalisé sans humain apparaît être un outil novateur de mesure de l'état de bien-être. Enfin, l'étude de la production de sons non-vocaux, basée sur une approche comparative combinant l'observation de chevaux de centre équestre et des chevaux vivant en condition semi-naturelle (favorable au bien-être), a révélé que l'ébrouement (hors contrainte respiratoire liée à une maladie ou à un équipement mal ajusté) serait un marqueur fiable d'émotions positives d'intensité modérée chez le cheval, puisqu'il exprimerait que ce dernier perçoit de façon positive son environnement. L'ensemble des recherches menées dans ce travail ouvrent vers des perspectives d'applications intéressantes dans le milieu équin, mais aussi d'un point de vue fondamental et méthodologique.

Title: Attention, positive emotions and welfare in horses.

Keywords: domestic horse, positive emotions, welfare, indicator, attention, anticipatory behaviours, acoustic signals.

Abstract: Indicators of positive emotions in animals are still scarce. However, many studies showed that favour these emotions is a promising way to improve individual welfare state. This study aims to validate and identify some indicators of positive emotions in horses. First, based both on an experimental study using accelerometers and the observation of riding school horses during their regular feeding time, we characterized anticipatory behaviours in this specie and showed that they were triggered by an environmental cue. Moreover, anticipatory behaviours were associated with frustration and thus were not reliable indicators of positive emotions. However, an increase of their intensity may reflect a poor welfare state. Then, the use of an EEG helmet designed for awake horses free from their movements, allowed us to (i) confirm the left-hemisphere bias for positive emotions processes and the right hemisphere bias for attentional processes,

(ii) highlight the implication of theta waves in cognitive attentional processes, (iii) underline interactions between attentional and emotional processes in horses. Moreover, we showed that the measures of attentional characteristics thanks to a visual attention test (VAT) was useful to define attentional capacities at work. The same test conducted without a human was rather useful to evaluate the horses' welfare state. Finally, a comparative approach based on the observation of horses living either in restricted or in naturalistic conditions revealed that snort (out of breathing difficulties due to illness or poorly fitting equipment) could be a reliable indicator of positive emotions of low intensity as it would be the expression of the horses' positive appraisal of a situation. This works opens up promising fundamental and applied perspectives and applications.