

UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE SSBCV

UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements

Equipe Comportement, Neurobiologie, Adaptation

INRA de Tours - Nouzilly

THÈSE

 présentée par :

Mathilde VALENCHON

soutenue le : 1er JUILLET 2013

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François – Rabelais de Tours**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie / Ethologie

**INFLUENCE DU TEMPERAMENT SUR
LES PERFORMANCES
D'APPRENTISSAGE ET DE MEMOIRE
CHEZ LE CHEVAL *Equus caballus*
Etude de sa modulation par le stress**

THÈSE dirigée par :

LANSADE Léa
LEVY Frédéric

Ingénieur de recherche, IFCE, Tours-Nouzilly
Directeur de recherche, INRA Tours-Nouzilly

RAPPORTEURS :

PETIT Odile
DICKEL Ludovic

Directeur de recherche, CNRS, Strasbourg
Professeur, Université de Caen Basse Normandie

JURY :

BOISSY Alain
COUTUREAUX Etienne
DICKEL Ludovic
ERHARD Hans
LANSADE Léa
LEVY Frédéric
PETIT Odile

Directeur de recherche, INRA, Clermont-Ferrand-Theix
Chargé de recherche, Université de Bordeaux
Professeur, Université de Caen Basse Normandie
Maître de conférences, Ecole Agro-Paris-Tech
Ingénieur de recherche, IFCE, Tours-Nouzilly
Directeur de recherche, INRA, Tours-Nouzilly
Directrice de recherche, CNRS, Strasbourg

A mes parents

A Charline, Pauline, Malo et Damien

A mes grands-mères

A la mémoire de mes grands-pères

A Tedd

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble de mon jury, Alain Boissy, Etienne Coutureau, Ludovic Dickel, Hans Erhard et Odile Petit pour avoir accepté avec enthousiasme notre invitation à juger ce travail de thèse. Merci en particulier à mes deux rapporteurs, Ludovic Dickel et Odile Petit.

Je souhaite également remercier mes deux encadrants, Léa Lansade et Frédéric Lévy, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail passionnant et pour la disponibilité dont ils ont fait preuve à chacune des étapes de cette thèse. Je te remercie Léa pour m'avoir fait confiance tout au long de ces années, notamment dans la conduite des expérimentations et dans la valorisation des résultats lors des diverses manifestations. Merci notamment de m'avoir initié à la diffusion de nos travaux au grand-public qui m'a permis d'élargir mes horizons. Je te remercie Frédéric pour avoir toujours répondu présent à mes appels, aussi bien dans le cadre de ce travail de thèse que pour la préparation de mon après-thèse.

Je remercie également nos collaborateurs pour leur investissement, Armelle Prunier de l'INRA de St Gilles, Aleksandra Górecka-Bruzda de l'institut de Génétique et d'Elevage Animal de Magdalenka en Pologne, Aline Foury et Marie-Pierre Moisan de l'INRA de Bordeaux, Etienne Coutureau et Alain Marchand de l'Université de Bordeaux, et Alain Boissy de l'INRA de Theix. Je les remercie en particulier pour avoir toujours répondu présent pour écouter et répondre à mes nombreuses interrogations, discuter de mes résultats et/ou pour leur conseils lors de la rédaction des articles.

Merci aux membres de l'unité expérimentale UPEAO équin pour leur aide technique dans la réalisation de mes expériences, pour leur disponibilité et leur bonne humeur. Merci à Guy Duchamp et Fabrice Reignier pour avoir su tout mettre en oeuvre pour chacune de mes études puisse se dérouler dans les meilleures conditions possibles. Merci également à Philippe, François, Yvan, Thierry pour prendre si bien soin des ponettes et pour leur aide à plusieurs reprises. Mention spéciale à Jean-Marie pour sa grande contribution lors de nos expérimentations, pour sa gentillesse, sa disponibilité et, bien sûr, pour ses sablés bretons.

Je remercie chaleureusement tous les membres de l'Equipe Comportement, Neurobiologie, Adaptation de l'INRA de Nouzilly, pour m'avoir accueilli durant ces années de thèses. Si ce travail a pu être accompli, c'est aussi grâce à eux. Merci donc à Raymond, capitaine du navire, Aline, Elodie, Cécile, Marianne, Fabien, Polo, Sabrina et les autres, ainsi que tous les

stagiaires et post-doctorants de passage, pour leur présence, leurs conseils et pour tous ces bons moments passés à l'INRA. Ludovic, je te remercie en particulier pour la grande aide que tu m'auras apporté tout au long de cette thèse, pour ta disponibilité sans faille, pour ces longues heures à discuter de mes résultats, pour ton aide dans l'écriture des papiers ainsi que pour ton soutien dans la préparation de mes projets post-doctoraux. Cette thèse n'aurait pas été la même sans ton investissement. « Y'a plus qu'à », quoi. Christine, je te remercie également pour ton humanité, pour ton soutien, pour m'avoir initié aux joies des analyses de l'activité cardiaque, et pour toutes les discussions qu'on a pu avoir et qui m'ont aidé à grandir au fil de ces années. Mention spéciale également à Chantal ! J'ai beaucoup appris à tes côtés et je pense pouvoir dire sans prendre de risque que tu as une part énorme dans le bon déroulement de toutes les études que nous avons mené tout au long de cette thèse. Merci pour ton dynamisme contagieux, ta rigueur, ta motivation et ta détermination sans faille, mêmes lorsque la neige s'en mêlait ! Merci également, Nicole et Maryse, pour votre gentillesse et votre bonne-humeur au quotidien.

Un grand merci à toutes les stagiaires qui ont participé de près ou de loin à nos expérimentations : Aurélie, Réjane, Flore, Stéphanie, Elodie, Lucie et Alix. Merci pour leur motivation, leur enthousiasme et leur bonne humeur au quotidien.

Je tiens également à remercier les « filles de l'INRA » que j'ai eu la chance de rencontrer et qui m'ont accompagné le temps de ce bout d'chemin en Touraine. Merci à vous toutes pour tous ces bons moments passés aussi bien « à la ville qu'à l'INRA ». Merci Vanessa pour avoir été l'une des premières à m'accueillir et me guider à mon arrivée à l'INRA. Merci pour ton grand soutien, ta bonne-humeur et ta présence... aussi bien dans les bons moments que dans les mauvais. Sarah, je suis tellement contente que nos chemins se soient croisés et qu'on ait eu l'occasion de partager autant. Merci d'être toujours là pour moi, pour ton soutien jusqu'aux toutes dernières étapes et pour avoir été une compagne de nuits blanches de boulot exemplaire. Merci Mélanie pour ta bonne-humeur et ton sourire sans faille, pour nos éclats de rire, pour tes cascades, mais surtout pour tes « mélanites » qui ont su, la plupart du temps, surpasser ma propre maladresse (c'est dire !). Merci camarade Maïna pour tous ces bons moments passés ensemble, pour nos longues discussions à refaire le monde, pour nos débats (bon, en fait on était souvent d'accord) et tout simplement pour être là. Merci aussi à John et toi pour votre accueil toujours chaleureux, aussi bien à Tours qu'ailleurs. Merci Margot de

t'être tout d'abord lancé dans l'aventure de l'Ethologie du cheval avec nous, et d'avoir ensuite posé tes valises en Touraine un peu plus longtemps, ce qui nous a permis de passer tant de bons moments ensemble, entre promenades à cheval et pizzas chèvre-miel ! Merci Claire pour tout ce qu'on a partagé, pour nos conversations à bâtons rompus, pour les souvenirs de manip, de festival et j'en passe ! Merci Mariangela pour ton extrême gentillesse et ta générosité qui nous ont tous bluffé, et pour m'avoir appris tout un tas d'insultes en italien à destination des autres usagers de la route. Merci Laura pour ton enthousiasme et ta bonne-humeur communicative.

Je remercie également toutes les personnes que j'ai eu la chance de côtoyer lors de mon aventure dans la recherche « d'avant thèse », qui m'ont donné goût à la Recherche et ont ainsi contribué à motivation pour mener cette thèse. Merci en particulier à toute l'équipe du GMPC de Caen, Ludovic, Thomas, Valentine, Anne-Sophie, Cécile, Mathieu et les autres grâce auxquels j'ai beaucoup appris durant mon stage de master 2.

Enfin, un grand merci à mes amis de longue date, en particulier Annelise, Marie, Lucas, Pauline, Fatou et JB pour leur soutien, pour leur patience face à mon manque de disponibilité, en particulier durant les derniers mois, et pour avoir été là quand il fallait. Merci également à Georges, Karen et toute la famille Paumier pour leurs encouragements.

Un grand merci également à ma famille pour son soutien sans faille. Merci en particulier à mes parents pour m'avoir transmis le goût de la biologie et l'amour des animaux, et également à mes sœurs pour être toujours là pour moi.

Enfin, merci à toi Tedd pour tout ce que tu as fait pour moi. J'ai hâte de découvrir quelle nouvelle aventure nous attend maintenant !

Résumé

L'objectif de cette thèse était de caractériser les relations entre tempérament et performances cognitives chez le cheval et leur modulation par le stress. Le tempérament était évalué selon cinq dimensions: la peur, la réactivité à l'Homme, la grégarité, la sensibilité tactile et l'activité locomotrice. Les relations entre ces dimensions et les performances lors de tâches d'apprentissage instrumental et de test de mémoire de travail ont été recherchées. Parmi les cinq dimensions de tempérament, la dimension de peur semble particulièrement essentielle dans la mesure où elle a influencé les performances cognitives dans chacune de nos études. Ces relations dépendent de la présence ou non de facteurs de stress. En cas de stress intrinsèque, c'est-à-dire lorsque la tâche cognitive est elle-même source de stress, la peur a un effet positif sur les performances d'apprentissage. Au contraire, en cas de stress extrinsèque, la peur a un effet négatif sur les performances d'apprentissage et de mémoire. En l'absence de facteur de stress, ces relations sont plus contrastées et dépendent de la tâche cognitive utilisée. Dans une moindre mesure, des relations entre performances cognitives et dimension d'activité locomotrice ont également été observées régulièrement au cours de nos analyses. Son influence est toujours positive et ne ressort qu'en présence de facteurs de stress, qu'ils soient extrinsèques ou intrinsèques, et pourrait s'expliquer par une plus grande propension à agir de la part des individus au tempérament actif. Les autres dimensions de tempérament sont peu reliées aux différences de performances cognitives. Ce travail de thèse permet donc de contribuer à la caractérisation des liens entre tempérament et cognition, qui est un champ d'étude en pleine expansion, et met en évidence l'importance du stress dans la compréhension ces relations.

Mots-clés : variabilité interindividuelle, personnalité, stress, apprentissage instrumental, mémoire de travail, mémoire à long-terme, mammifères

Résumé en anglais

The aim of the current thesis was to characterize the relationships between temperament and cognitive performances in horses and their modulations when influenced by stress. The temperament was evaluated considering five dimensions: fearfulness, reactivity to humans, gregariousness, tactile sensitivity and locomotor activity. The relationships between these dimensions and performances during instrumental learning tasks as well as working memory tests have been investigated. Among the five dimensions of temperament, fearfulness seems particularly important in the sense that it has influenced the cognitive performances in each one of our studies. These relationships vary depending on the presence or absence of stressor. In case of intrinsic stress, *i.e.* the cognitive task is the source of stress; fearfulness has a positive effect on learning performances. On the contrary, in case of extrinsic stress, fearfulness has a negative effect on learning and memory performances. Without any stressor, these relationships are more contrasted and depend on which cognitive task is used. To a lesser extent, relationships between cognitive performances and locomotor activity have also been regularly noticed during our experiments. Its influence is always positive and stands out only in presence of stressors, whether they are intrinsic or extrinsic, and it could be explained by individuals with an active temperament having a greater tendency to take action. The other dimensions of temperament are not closely related to the differences in cognitive performances. Therefore, this thesis contributes to the characterization of links between temperament and cognition, which is a field of study in a wide expansion, and shows the importance of stress in order to understand these relations.

Key-words: inter-individual variability, personality, stress, instrumental learning, working memory, long-term memory, mammals

Table des matières

Remerciements	3
Résumé	7
Résumé en anglais	8
Table des matières	9
Liste des tableaux	12
Liste des figures	13
Liste des annexes	14
Liste des publications	15
Autres communications avec comité de lecture	16
INTRODUCTION	19
A. Apprentissage et Mémoire	20
1. Généralités	20
2. L'apprentissage	20
3. L'Extinction	24
4. Les systèmes de mémoire	26
5. Variabilité interindividuelle des performances d'Apprentissage et Mémoire .	36
B. Tempérament	37
1. Généralités sur le tempérament	37
2. Le tempérament chez l'animal	39
3. Les principaux traits et dimensions de tempérament étudiés chez l'animal	40
4. Comment mesurer le tempérament ?	43
5. Influences génétiques et environnementales sur le tempérament	46
6. L'étude du tempérament dans un contexte plus large	47
C. Influence du tempérament sur les performances d'Apprentissage et de Mémoire	48
1. Les différentes approches expérimentales	48
2. Influence des traits / dimensions de tempérament sur les performances d'apprentissage	49
D. Le stress : modulateur des relations entre tempérament et performances d'apprentissage et de mémoire ?	55
1. Généralités sur le stress	55
2. Stress et performances cognitives	56

3.	Sensibilité au Stress et tempérament	62
4.	Stress, tempérament et performances cognitives	63
E.	Le modèle équin.....	66
1.	Pourquoi ce choix du modèle équin ?	66
2.	Etat des lieux des connaissances chez le cheval	67
	OBJECTIFS GENERAUX DE LA THESE	76
A.	Synthèse de la problématique.....	76
B.	Les questions posées dans le cadre de la thèse.....	79
C.	Choix expérimentaux	79
D.	Plan de la thèse	84
	CHAPITRE 1 : Relations entre tempérament et performances cognitives en l'absence de stress extrinsèque	86
A.	Objectifs	87
B.	Hypothèses	87
C.	Méthodologie générale	88
D.	Article 1	89
E.	Discussion et conclusion du chapitre 1	102
	CHAPITRE 2 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques	105
A.	Objectifs et contexte	106
B.	Hypothèses	107
C.	Méthodologie générale	107
D.	Article 2	109
E.	Article 3	130
F.	Discussion et conclusion du chapitre 2	141
	CHAPITRE 3 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques et/ou intrinsèques	145
A.	Objectifs	146
B.	Hypothèses	147
C.	Méthodologie générale	147
D.	Article 4	149
E.	Discussion et conclusion du chapitre 3	173
	DISCUSSION GENERALE	176

A. Effet du stress extrinsèque sur les performances cognitives	179
B. Le stress module les relations entre tempérament et performances cognitives..	181
1. Influence de la dimension de peur	182
2. Influence des autres dimensions de tempérament.....	187
3. Conclusion sur les liens entre tempérament, performances cognitives et stress	189
C. Les limites de ce travail.....	190
1. Les limites liées à l'utilisation d'un modèle de tempérament.....	190
2. Les limites liées au choix des tâches cognitives utilisées et à l'utilisation de	
 sujets femelles	191
3. Les limites liées au choix des facteurs de stress	192
1. Bilan de l'utilisation des indicateurs de stress physiologiques.....	193
2. Les limites liées à l'interprétation des résultats.....	195
D. Perspectives et implications pratiques.....	196
1. La peur est-t-elle reliée à une forme de rigidité cognitive ?	196
2. Implications pratiques	200
Conclusion.....	203
Résumé	228
Résumé en anglais	228

Liste des tableaux

Tableau 1 Présentation d'études ayant exploré les capacités de mémoire de travail chez l'animal à partir d'un paradigme de test de choix avec délai	31
Tableau 2. Exemples de traits de tempérament mesurés chez le cheval et en fonction de la méthode d'évaluation utilisée (Q : questionnaire, T : tests comportementaux, C : observations comportementales)	72
Tableau 3. Principaux facteurs intervenant dans la relation entre stress et performance d'apprentissage et de mémoire sur lesquels le travail de thèse s'est focalisé. Les facteurs surlignés en vert et écrit en gras correspondent à ceux que nous n'avons pas fait varier. Ainsi nous nous sommes concentrés sur l'étude d'un seul type d'apprentissage (instrumental) et de stress aigus d'intensité a priori modérée. Les facteurs surlignés en jaune correspondent aux facteurs que nous avons fait varier : la source de stress (intrinsèque vs. extrinsèque), la phase de mémoire ciblée par l'état de stress (pendant ou après acquisition, pour les apprentissages, ou pendant les sessions de tests, pour la mémoire de travail), et le type de performance d'apprentissage et de mémoire évaluée (mémoire de travail, acquisition / réacquisition, rappel à long-terme / très long terme et extinction). Les facteurs surlignés en gris correspondent aux facteurs que nous avons écartés. Les indices (^{1,2,3}) correspondent aux numéros des chapitres dans lesquels chaque combinaison de facteurs a été étudiée.	83

Liste des figures

Figure 1 Types de mémoire (mémoires à court terme, long terme et très long terme) en fonction de la durée pendant laquelle la trace mnésique est conservée	26
Figure 2 Courbe théorique décrivant les relations entre performance cognitive (apprentissage et mémoire) et intensité du stress associé à ce contexte (d'après Yerkes and Dodson 1908).	57
Figure 3. Schématisation des différents moments d'expositions au stress par rapport aux processus d'acquisition, de consolidation ou de récupération de l'information	60
Figure 4. Courbe théorique décrivant les relations entre performance cognitive (apprentissage et mémoire) et intensité du stress associé à ce contexte pour un individu au tempérament A et un individu au tempérament B. Ainsi, une exposition à un même facteur de stress aura des impacts différents selon le tempérament des individus car leurs états de stress peuvent différer en fonction de leur tempérament.....	64
Figure 5. Schématisation des liens possibles entre tempérament, performances d'apprentissage et de mémoire et stress.	78
Figure 6. Courbe en « U » inversé décrivant les relations théoriques entre performance cognitive (ici performance de mémoire de travail) et intensité de l'état de stress. Les résultats obtenus dans l'article 2 pourraient être expliqués par cette relation.....	142

Liste des annexes

Annexe 1 : Résumé du poster présenté lors du 1 ^{er} Symposium d’Ethologie Vétérinaire (Paris, septembre 2011).....	227
---	-----

Liste des publications

Valenchon, M., Lévy, F., Górecka-Bruzda, A., Calandreau, L. & Lansade, L. *Accepté pour publication.* Characterization of long-term memory, resistance to extinction, and influence of temperament during two instrumental tasks in horses. *Animal Cognition*. (Chapitre 1)

Valenchon, M., Lévy, F., Prunier, A., Moussu, C., Calandreau, L. & Lansade, L. 2013. Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament. *Plos One*, 8, e62324. (Chapitre 2)

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Leterrier, C. & Lansade, L. *En revision.* Stress and temperament affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*. *Animal Behaviour*. (Chapitre 2)

Valenchon, M., Lévy, F. & Lansade, L. *En préparation.* Influence of temperament on instrumental learning performances according to reinforcement used and stress level in horses. *Applied Animal Behaviour Science*. (Chapitre 3)

Lansade, L., Baranger, G., Coutureau, E., Marchand, A., **Valenchon, M.**, and Calandreau L. *Accepté pour publication.* Dimensions of Temperament Modulate Cue-Controlled Behavior: A Study on Pavlovian to Instrumental Transfer in Horses (*Equus Caballus*). *PLoS ONE*

Valenchon, M., Lévy, F., Neveux, C., Moussu, C., Yvon, J. M. & Lansade, L. *En préparation.* Horses under an enrichment program showed better welfare, stronger relationships with humans and less fear.

Fortin, M., **Valenchon, M.**, Lévy, F., Calandreau, L., Lansade, L. *En préparation.* Learning in a place previously associated with negative or positive events influence cognitive flexibility during instrumental behaviour, in interaction with temperament.

Autres communications avec comité de lecture

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Legoubey, L., Moussu, C., Yvon, JM. and Lansade, L. 2013. *Influence of temperament on learning and memory performances in horses: synthesis of three years of thesis work.* **Poster.** 39th day of the Equine Research, Paris, France, 28th March 2013, p.147-152

Foury, A., Lansade, L., **Valenchon, M.,** Neveux, C., Lévy, F. and Moisan M.P. 2013. *Genomic evaluation of stress in horses.* **Poster.** 39th day of the Equine Research, Paris, France, 28th March 2013, p.139-142

Valenchon, M., Lévy, F., Neveux, C., Moussu, C, Yvon, JM. and Lansade, L. 2012. *Temperament influences working memory according to the stress level in horses.* **Poster.** Frontiers in Stress and Cognition: From Molecules to Behavior. Ascona, Switzerland. 23th-26st September 2012

Valenchon, M., Lévy, F., Górecka-Bruzda, A., and Lansade, L. *Long-term memory and extinction of instrumental responses in two tasks in horses: Which influence has temperament?* **Poster.** Annual meeting of the “GDR Mémoire” (Research Group in Memory), Cargèse, France, 20th-23rd March 2012

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M. and Lansade, L., 2012. *Temperament influences working memory according to stress level in horses.* **Talk.** Annual meeting of the “GDR Mémoire” (Research Group in Memory), Cargèse, France, 20th-23rd March 2012

Valenchon, M., Lévy, F., Neveux, C., Moussu, C, Yvon, JM. and Lansade, L. 2011. *Horses under an enrichment program showed better welfare, stronger relationships with humans and less fear.* **Poster.** First International Symposium of Veterinary Ethology. Paris, France, 9th-11st September 2011

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Legoubey, L., Moussu, C., Yvon, JM. and Lansade, L. 2012. *Working memory is constantly involved during horse training: what is the influence of temperament and stress on this fundamental cognitive mechanism?* **Talk.** 38th day of the Equine Research, Paris, France, 1st March 2012, p.57-66

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Legoubey, L., Moussu, C., Yvon, JM. and Lansade, L. 2011. *Temperament influences working memory according to stress level in horses.* **Talk.**

Annual meeting of the “GDR Ethologie” (Research Group in Ethology), Montpellier, France, 5-6th September 2011

Valenchon, M., Lévy, F., Moussu, C., Simon, F., Holtz, A., Yvon, JM. and Lansade, L. 2011. *Acquisition, long-term memory and extinction of instrumental responses in two tasks in horses: Which influence has temperament?* **Talk.** Annual congress of the SFECA, Tours, France, 17th-19th may 2011, p.35

Neveux, C., Lansade, L., **Valenchon, M.,** Moussu, C., Yvon, JM., Pasquier, F. and Lévy, F. 2011. *Horses living in an enriched environment have better welfare, stronger relationships with humans and show less fear.* **Talk.** Annual congress of the SFECA, Tours, France, 17th-19th may 2011, p.28

Valenchon, M., Lévy, F., Moussu, C., Simon, F., Holtz, A., Yvon, JM. and Lansade, L. 2011. *Horses living in an enriched environment have better welfare, stronger relationships with humans and show less fear.* **Talk.** 37th day of the Equine Research, Paris, France, 24th February 2011, p.33-42

Valenchon, M., Lévy, F., Moussu, C., Simon, F., Holtz, A., Yvon, JM. and Lansade, L. 2011. *Long-term memory and extinction of instrumental responses in two tasks in horses: Which influence has temperament?* **Poster.** 37th day of the Equine Research, Paris, France, 24th February 2011, p.187-190

Conférences grand public

Valenchon, M. 2013. *Temperament and stress: two factors influencing learning and memory performances in horses.* **Interactive seminar.** “Journée d’information : actualités en éthologie équine” (Day of information on news in equine ethology), Saumur, France, 26th March 2013.

Valenchon, M. 2012. *Learning abilities in Horses.* **Interactive seminar.** “Ferm’Expo” exhibition, Tours, France, 5th November 2011.

Valenchon, M. Lansade, L., Neveux, C. and Lévy, F. 2011. *Enrichment of the equine environment.* **Interactive seminar** Conference of Horse Ethology, Namur, Belgium, 19th March 2011

Article de vulgarisation

Valenchon, M. and Lansade, L. 2011. *Which horses are the best learners? Learning performances vary according to the temperament of the horses.* « Equ'idée » n°75, journal de l'IFCE (Institut Français du cheval et de l'Equitation)

INTRODUCTION

A. Apprentissage et Mémoire

1. Généralités

La cognition décrit l'ensemble des processus qui permettent d'acquérir, de traiter, de mémoriser et d'agir à partir des informations de l'environnement. Elle inclut la perception, l'apprentissage, la mémoire et la prise de décision (Shettleworth 2001). L'apprentissage et la mémoire permettent à un individu de modifier et ajuster son comportement en fonction des fluctuations de son environnement et à partir de son expérience antérieure (Eibl-Eibesfeldt 1984; Pearce 2008; Shettleworth 2010).

L'aspect adaptatif des processus d'apprentissage et de mémoire peut être résumé par la citation suivante de Baddeley (in Schachter et Tulving 1994, p. 351) :

« Je suppose que la mémoire, comme d'autres capacités cognitives, a évolué de façon à permettre à l'organisme d'appréhender un monde complexe mais structuré. Le monde n'est jamais entièrement prédictible, mais il a suffisamment de régularités pour que l'organisme puisse tirer avantage du passé pour prédire l'avenir, c'est-à-dire utiliser l'apprentissage et la mémoire »

En d'autres termes, la capacité à apprendre peut permettre à un individu d'acquérir une réponse comportementale pertinente à un moment donné. Le fait de pouvoir l'encoder, la stocker et la restituer lui permet par la suite de pouvoir exprimer à nouveau cette réponse sans avoir à la réacquérir complètement.

2. L'apprentissage

a) Différentes formes d'apprentissage

L'apprentissage peut revêtir des formes très variées. Une dichotomie classique entre les différentes formes d'apprentissage consiste à distinguer les apprentissages dits « non-associatifs » des apprentissages dits « associatifs », dont font partie les conditionnements instrumentaux qui sont au cœur de ce travail de thèse.

Parmi les apprentissages non-associatifs, on retrouve l'habituation et la sensibilisation. L'habituation peut être définie par la diminution progressive d'une réponse de l'organisme à un stimulus neutre suite à une présentation répétée de ce stimulus. La sensibilisation correspond au contraire à l'augmentation d'une réponse à un stimulus neutre suite à l'exposition à un premier stimulus dit « sensibilisateur » ayant eu une répercussion a priori « négative » sur l'organisme (ex. douleur, peur).

Parmi les apprentissages associatifs, on trouve le conditionnement instrumental, sur lequel nous reviendrons plus en détails, et le conditionnement « classique ». Le conditionnement classique, également appelé conditionnement de type I ou Pavlovien, a été initialement mis en évidence par les travaux de Pavlov sur le modèle canin (1927). Le conditionnement classique décrit la procédure par laquelle un stimulus neutre (ou stimulus conditionnel « SC ») est associé de manière répétée à un stimulus inconditionnel (« SI ») qui induit une réponse exprimée de manière inconditionnelle, de telle sorte que le SC finisse par induire lui-même cette réponse (Bouton 2007). Cette réponse peut alors être qualifiée de « conditionnée » puisqu'elle peut être induite par la seule présence du SC une fois l'acquisition terminée.

b) L'apprentissage instrumental

(1) Description et définition

La description de cette forme d'apprentissage trouve ses origines dans des travaux réalisés au début du XX^{ème} siècle par Thorndike et Skinner. Thorndike (1911), tout d'abord, a mené une série d'expériences où il a observé que des chats enfermés dans une boîte ouvrable par la manipulation d'une sorte de loquet réussissaient de plus en plus rapidement et efficacement à s'extraire de la boîte au fil des répétitions. Thorndike en a conclu qu'un apprentissage avait lieu et se faisait au regard de l'effet que produisait l'action volontaire de l'animal (la manipulation du loquet entraîne l'ouverture de la porte). Il énonce alors ce qu'on appelle la « loi de l'effet » : « tout comportement qui conduit à un état satisfaisant de l'organisme a tendance à se reproduire ». Skinner (1938) a, quant à lui, mis en place le fameux dispositif, connu aujourd'hui sous le nom de « boîte de Skinner », où un rat doit appuyer sur un levier pour obtenir une récompense alimentaire.

Le conditionnement instrumental (ou opérant, de type II, ou Skinnerien) se réfère à la procédure par laquelle un organisme acquiert une réponse comportementale active et volontaire en réponse à une situation spécifique et au regard des conséquences qu'aura cette action (Delacour 1998; Bouton 2007). Une procédure de conditionnement instrumental se compose donc :

- d'un ensemble de stimuli constituant la situation spécifique (« S ») où l'animal a l'opportunité de répondre
- d'une réponse active et volontaire produite par le sujet (« R »)
- de conséquences provoquées par la réponse fournie par le sujet (« C »)

Bien que les qualificatifs d'instrumental et d'opérant sont souvent utilisés indifféremment dans les études, certains auteurs ont mis en lumière une nuance entre les deux termes qui tiendrait de la modalité de la tâche. Ainsi, on parlerait plutôt « d'opérant » dans le cas où l'animal est libre d'exprimer autant de réponses qu'il le souhaite (ex. le rat peut appuyer plusieurs fois sur le levier dans le dispositif de Skinner), et « d'instrumental » dans le cas où l'expérimentateur doit à chaque fois mettre en place la situation où l'animal a la possibilité de répondre (ex. le chat ne peut ouvrir qu'une fois la boîte, jusqu'à l'essai suivant où il est à nouveau enfermé dans le dispositif de Thorndike, Bouton 2007). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a suggéré jusqu'à présent qu'une différence de nature cognitive ou neurobiologique pourrait exister entre la condition « opérante » et « instrumentale ». Dans le cadre de ce manuscrit de thèse, nous emploierons donc le terme « instrumental » pour désigner au sens large ces deux conditions de test.

La notion de « rétroaction » qu'exerce le milieu sur l'action instrumentale réalisée par l'organisme est un élément essentiel dans la compréhension des processus cognitifs mis en jeu lors de l'apprentissage instrumental. Les conséquences, augmentant la probabilité d'apparition d'un comportement dans le cadre de cet apprentissage, sont appelées renforcements et peuvent être de nature positive ou négative. Les renforcements dits « positifs » correspondent aux événements / stimuli qui apparaissent comme conséquences de la réponse. Les renforcements positifs correspondent souvent à des récompenses alimentaires ou à l'accès à une boisson, mais d'autres types de renforcements positifs peuvent être utilisés. Par exemple, Lee et ses collaborateurs (1999) ont exploré la question de la motivation maternelle en soumettant des rates à un conditionnement instrumental où l'action d'appuyer sur un levier

permettait la distribution de nourriture dans un premier temps (phase d'entraînement), puis permettait l'accès à un raton nouveau-né dans un second temps (phase de test). Les renforcements dits « négatifs » correspondent quant à eux aux évènements / stimuli qui cessent ou disparaissent comme conséquences de la réponse. Par exemple, dans le cadre d'une tâche instrumentale d'évitement actif, un animal doit apprendre à se déplacer dans un des deux compartiments délimités dans l'aire de test où il se trouve pour faire cesser l'émission de chocs électriques (exemple chez le rat : Brush et al. 1985; Vicens-Costa et al. 2011; chez le guppy : Budaev et Zhuikov 1998) ou de jets d'air (exemple chez le cheval : Lansade et Simon 2010).

(2) *Stratégies instrumentales*

L'apprentissage instrumental peut être encodé de deux manières différentes (Adams et Dickinson 1981; Dickinson et al. 1995). On distingue ainsi la stratégie dite « dirigée vers un but » (« goal-directed » en anglais) et la stratégie dite « d'habitude » (« habit » en anglais). Dans le cas de la stratégie dirigée vers un but, la réponse instrumentale (R) est exprimée au regard des conséquences (C) qu'aura cette réponse, ce qui se traduit donc par une association causale « R-C ». Dans le cas d'une stratégie d'habitude, la réponse instrumentale est fournie en réponse aux stimuli (S), mais de manière indépendante des conséquences engendrées par la réponse, traduisant ainsi une association de type exclusivement « S-R ». La stratégie d'habitude est d'ailleurs également appelée stratégie « stimulus-réponse ». La stratégie dirigée vers un but est considérée comme étant plus flexible mais sollicitant davantage les capacités cognitives dans la mesure où elle implique une forme de représentation du but, par rapport à la stratégie d'habitude, plus rigide et présentant un caractère automatique (Adams et Dickinson 1981; Dickinson 1985; Balleine et Dickinson 1998)

Au début de l'apprentissage, les individus expriment préférentiellement une stratégie dirigée vers un but. Ensuite, un changement plus ou moins rapide se fait d'une stratégie dirigée vers un but puis vers une stratégie d'habitude au fil de l'entraînement (Dickinson et al. 1995; Killcross et Coutureau 2003). Au cours des dix dernières années, plusieurs travaux ont suggéré que les deux types d'associations seraient présents en parallèle et que, à tout moment, l'une ou l'autre des stratégies serait sélectionnée en fonction de différents facteurs (Coutureau et Killcross 2003; Killcross et Coutureau 2003; Yin et al. 2005). Un de ces facteurs de modulation est le stress, connu pour favoriser les stratégies d'habitude plutôt que dirigées vers

un but (Dickinson et al. 1995; Schwabe et Wolf 2009; Schwabe et Wolf 2011b; pour des articles de synthèse, voir Schwabe et Wolf 2010a; Schwabe et al. 2010). Ce dernier point sera développé dans la suite du manuscrit dans la partie consacrée à l'effet du stress sur les performances d'apprentissage (voir paragraphe *D.2. Stress et performances cognitives*).

Expérimentalement, il est possible de déterminer la prédominance de l'une des deux stratégies en soumettant les sujets à des tests où l'on modifie les conséquences de la réponse instrumentale. En effet, un sujet ayant développé une stratégie d'habitude sera moins sensible un sujet ayant développé une stratégie dirigée vers un but au fait que la conséquence de la réponse sera modifiée, inexistante ou non pertinente. On distingue deux grands types de tests pour révéler ces deux stratégies: 1) la dégradation de la contingence et 2) la dévaluation de la récompense (Balleine et Dickinson 1998; Corbit et Balleine 2003; Coutureau et Killcross 2003; Yin et al. 2005). Dans une moindre mesure, des tests d'extinction (correspondant à l'omission des renforcements) peuvent également donner un indice sur l'utilisation préférentielle de l'un des deux types de stratégies. En effet, une résistance à l'extinction peut traduire une stratégie d'habitude mais ne permet pas de le déterminer avec certitude (Schwabe et Wolf 2011b). Les processus d'extinctions sont détaillés dans le paragraphe suivant.

3. L'Extinction

L'*extinction* conduit à l'arrêt d'une réponse face à une situation lorsque cette dernière ne conduit plus à un bénéfice pour l'animal, c'est-à-dire lorsqu'elle n'est plus renforcée (Malkki et al. 2011). Par exemple, pour se nourrir efficacement en conditions naturelles, un animal doit être capable d'acquérir rapidement des réponses renforcées, mais doit également être capable de cesser rapidement de répondre aux situations qui ne conduisent plus à un accès à une ressource.

L'extinction se réfère à la diminution de la force ou de la probabilité d'apparition d'un comportement appris qui survient en l'absence du SI (conditionnement classique) ou lorsque le comportement n'est plus renforcé (conditionnement instrumental). Ce terme est à la fois utilisé pour désigner la procédure elle-même et la résultante de cette procédure (Bouton 2007; Pearce 2008). On parle de résistance à l'extinction lorsqu'un individu continue de répondre en l'absence prolongée de SI ou de renforcement. L'extinction est différente d'un oubli. C'est au contraire une forme active de nouvel apprentissage (Kaplan et Moore 2011). Dans le cadre

d'un apprentissage instrumental, l'extinction implique l'acquisition des nouvelles relations entre les stimuli « S », la réponse « R » et la conséquence « C » (notamment la nouvelle relation causale $R \rightarrow \text{absence de } C$) qui viennent se superposer aux relations précédemment acquises. L'acquisition et l'extinction sont connues pour être deux processus cognitifs distincts sous-tendus par des mécanismes neurobiologiques différents (Dillon et al. 2008; Malkki et al. 2011). Après une extinction, la réponse conditionnée ou instrumentale peut être restaurée dans certaines conditions, notamment dans un contexte différent ou après un certain délai (synthèse : Schiller et Delgado 2010). La résistance à l'extinction d'un animal est décrite par les auteurs comme une forme de persévérance et de manque de flexibilité cognitive (Pearce 2008; Malkki et al. 2011). La flexibilité cognitive peut être définie par la capacité d'un sujet à adapter son comportement face aux fluctuations de son environnement, notamment en inhibant des réponses dominantes lorsqu'elles ne sont plus optimales (Alexander et al. 2007; Bentosela et al. 2008). Comme nous l'avons vu précédemment, une stratégie instrumentale de type habitude se traduit par une perte de sensibilité à la conséquence de la réponse instrumentale exprimée. Dans le cadre d'un apprentissage instrumental, la résistance à l'extinction peut donc traduire la mise en place d'une stratégie d'habitude plutôt que dirigée vers un but (Schwabe et Wolf 2011b).

L'extinction de tâches instrumentales a surtout été étudiée chez les rongeurs de laboratoire dans le cadre de conditionnements opérants basés sur des motivations appétitives, majoritairement dans l'objectif d'étudier l'effet d'abus de substances (Zghoul et al. 2007; Orsini et al. 2008) ou dans le cadre de comparaisons de souches de laboratoire (Lederle et al. 2011; Malkki et al. 2011). Des tests d'extinction ont également été utilisés dans le cadre d'études concernant les stéréotypies. Les stéréotypies correspondent à des séquences comportementales répétées, invariantes et exprimées sans but apparent qui, du fait de leur quasi-absence à l'état naturel, sont considérés comme des indicateurs de mal-être (Mason 1991). Plusieurs auteurs pensent que certaines stéréotypies pourraient être associées, entre autres, à une perte de flexibilité cognitive. Ainsi, des études ont montré que des animaux domestiques ou captifs affectés par des stéréotypies présentent une plus grande résistance à l'extinction que des animaux témoins (campagnol des bois : Garner et Mason 2002; perroquet : Garner et al. 2003; ours : Vickery et Mason 2005; cheval : Hemmings et al. 2007).

4. Les systèmes de mémoire

a) Des systèmes de mémoire

Aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, on parle de *systèmes de mémoire* (Squire 1998, 2004) tant les processus mnésiques revêtent des formes variées et multiples. Classiquement, on oppose souvent en tout premier lieu la *mémoire à court terme* à la *mémoire à long-terme* sur la base de leur durabilité (ou *mémoire de travail* vs. *mémoire de référence* dans le cadre d'une vision plus fonctionnelle de la mémoire, Olton et al. 1979). La mémoire à court terme se caractérise par sa fugacité et son caractère temporaire (secondes - heures). La mémoire à long terme se caractérise elle par la consolidation des informations acquises permettant leur rappel après une période relativement longue. Au sein de la mémoire à long terme, certains auteurs distinguent la mémoire à long terme (« *long-term memory* » en anglais, heures-semaines) de la mémoire à très long-terme (« *long-lasting memory* » en anglais, mois-années, voir **Figure 1**, McGaugh 2000).

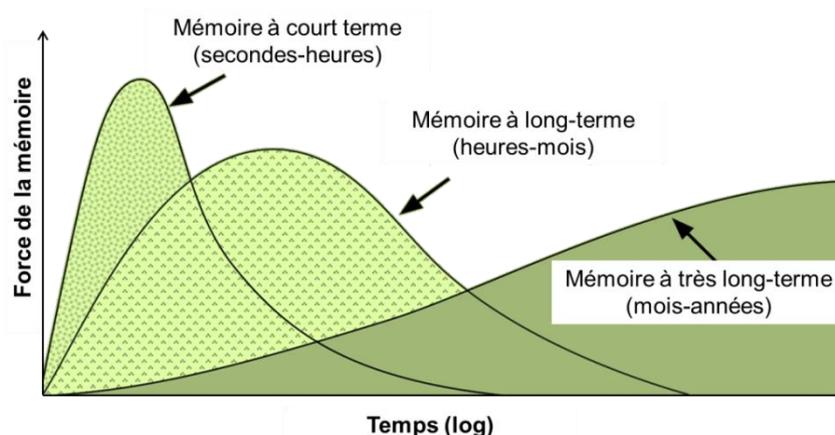


Figure 1 **Types de mémoire (mémoires à court terme, long terme et très long terme) en fonction de la durée pendant laquelle la trace mnésique est conservée**

(d'après McGaugh 2000)

b) La mémoire à court-terme

La mémoire à court-terme peut être définie comme la mémoire possédant une capacité limitée et pouvant retenir des informations uniquement de manière brève et temporaire (Bouton 2007). Nous nous intéresserons ici plus particulièrement à la *mémoire de travail* qui est généralement présentée comme un synonyme de la mémoire à court terme, ou comme une

forme de mémoire à court-terme (rétention temporaire) présentant un aspect fonctionnel particulier (manipulation et tri) (Kornum et Knudsen 2011).

(1) *Définitions de la mémoire de travail*

Chez l'animal, la mémoire de travail a d'abord été mise en évidence et définie dans le cadre de travaux réalisés chez les rongeurs par Olton ou encore Honig à partir de tâches spatiales (Dudchenko 2004). Parmi ces travaux, Olton et Samuelson (1976) ont tout d'abord placé quotidiennement des rats dans des labyrinthes radiaux à huit bras où de la nourriture était préalablement cachée à l'extrémité de chacun de ces bras. Au sein de chaque session quotidienne, l'animal était placé à plusieurs reprises au point de départ central du labyrinthe et avait à chaque essai la possibilité d'explorer un bras. Les auteurs ont observé que, chaque jour, les animaux étaient capables d'explorer successivement les huit bras afin d'accéder à la nourriture et sans commettre d'erreur, suggérant qu'ils se rappelaient des bras qu'ils avaient précédemment visités. Ainsi, une des premières définitions de la mémoire de travail est énoncée par Olton (1979) qui la définit comme la mémoire qui permet à un animal de se rappeler quel bras du labyrinthe il a visité au sein d'une même session et qui n'est plus pertinente lors de la session suivante, lorsque les bras du labyrinthe ont de nouveau été appâtés (Dudchenko 2004). Cette définition est restrictive dans la mesure où elle se base sur un paradigme de test particulier, mais elle a le mérite d'intégrer l'idée de la fugacité et de mise à jour en continue des informations maintenues dans la mémoire de travail : une fois que l'information maintenue dans la mémoire de travail n'est plus pertinente ou a été utilisée, elle peut être oubliée et laisser place à de nouvelles informations plus récentes. La définition d'Honig (1978 in Dudchenko 2004) est plus large que la définition d'Olton. Il propose de définir la mémoire de travail par la capacité à se représenter une information à travers une période de temps donnée pendant laquelle les indices relatifs à cette information ne sont pas présents afin de pouvoir réaliser ensuite une action en relation avec cette information.

La mémoire de travail se caractérise par sa capacité limitée en termes de volume (ex. nombre d'items maintenus) et de durée (ex. de quelques secondes à plusieurs heures). Chez l'Homme par exemple, il a souvent été dit que la capacité de rétention est d'environ 7 ± 2 éléments (Miller 1956), mais des travaux récents modèrent aujourd'hui cette idée (Chen et Cowan 2009). En fait, les capacités dépendent de l'espèce concernée, des individus, mais surtout de

l'utilité et de la pertinence des informations (Dudchenko 2004). La mémoire de travail est également très fortement dépendante du niveau d'attention des sujets et est particulièrement sensible aux interférences (Eysenck 1995; McElree 2001; Dukas 2002).

(2) *Evaluation des capacités de mémoire de travail chez l'animal*

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, la mémoire de travail peut être étudiée chez les rongeurs à partir de tâches spatiales prenant généralement la forme de labyrinthes reposant sur la motivation alimentaire des rats ou des souris, mais également très souvent sur leur tendance naturelle à explorer la nouveauté et à l'alternance spontanée dans le cadre de la navigation spatiale (pour une synthèse des tâches de mémoire de travail développées chez le rongeur, voir Dudchenko 2004). Parmi ces tests classiquement utilisés chez les rongeurs, on peut citer les tâches d'appariement retardée (ou DMTS en anglais : « delayed matching to sample ») et de non-appariement retardée (ou DNMTS : « delayed non-matching to sample »). Brièvement, le principe de ces tests est que le sujet doit se rappeler d'un stimulus donné après un certain délai pendant lequel le stimulus n'est pas présent, afin d'utiliser ce stimulus pour répondre à un problème posé (soit en choisissant ce stimulus dans le cas d'une tâche d'appariement, soit en choisissant l'alternative dans le cas d'une tâche de non-appariement). Les essais se déroulent donc en deux temps : l'animal est d'abord exposé au stimulus pendant un temps limité (ex. il est placé dans un labyrinthe en « T » où le bras gauche est bloqué) et ensuite, après un certain délai, il est placé à nouveau dans la situation de test sans restriction particulière (ex. il est placé dans un labyrinthe en « T » avec les bras de gauche et de droite ouverts). La première étape de ce paradigme est donc d'apprendre la règle qui permet de répondre au problème (ex. dans un labyrinthe en T, la règle est d'aller dans le bras nouveau pour obtenir une récompense), ce qui peut nécessiter un entraînement relativement long. Une fois la règle acquise, les performances peuvent donc refléter à la fois la mémoire de référence (rappel de la règle) et la mémoire de travail (rappel d'un stimulus à chaque essai). En plus du rat ou de la souris (Markowska et al. 1989), ces tests ont été développés chez d'autres espèces telles que le mini-porc (Nielsen et al. 2009), le macaque (Murray et al. 1989) ou encore le marmoset (Easton et al. 2003).

En complément à ces tests, à partir des travaux de Hunter chez le rat (1913), d'autres types de paradigmes ont été développés à la fois chez les rongeurs et chez d'autres espèces. Ils reposent

sur un principe de test de choix au sein duquel un délai est intégré entre la prise d'information du sujet et la possibilité qu'il a de faire un choix. Typiquement, un animal voit un expérimentateur cacher devant lui un item envers lequel il a une motivation particulière (ex. aliment caché derrière un panneau). Ensuite, durant un certain délai, on contraint l'animal à attendre. Evidemment, durant ce laps de temps, il ne peut pas voir l'item (ex. la nourriture), ni même parfois sa localisation (ex. le panneau). Ensuite, après ce délai, l'animal a la possibilité de chercher la localisation de l'item caché parmi l'ensemble des localisations possibles (Regolin et al. 2005b; Fiset et Dore 2006). Ces tests sont répétés en faisant varier de manière aléatoire la localisation de l'item recherché parmi les différentes localisations possibles. L'avantage de ce type de test est qu'il ne requiert pas d'entraînement intensif avant que la mémoire de travail soit testée, contrairement aux tâches d'appariement ou de non-appariement plus complexes. En effet, il faut simplement que l'animal intègre la règle simple qui est de se rendre là où se trouve l'item d'intérêt pour pouvoir y accéder, ce qui fait appel à un comportement relativement spontané dans la plupart des cas. Pour cette raison, nous avons choisi d'utiliser ce type de test dans le cadre de cette thèse. Il faut noter que, même si l'entraînement préalable au test n'est pas nécessairement long, il reste néanmoins important de respecter une période d'habituation afin que les sujets ne manifestent pas des comportements de peur conduisant à l'évitement du dispositif expérimental et de s'assurer que les sujets éprouvent un niveau de motivation élevé envers l'item utilisé.

Grâce à l'utilisation de ce type de paradigme, les capacités de mémoire de travail de différentes espèces de mammifères et d'oiseaux ont ainsi pu être évaluées (chiens : Fiset et al. 2003; chats : Fiset et Dore 2006; poules :Regolin et al. 2005a; Regolin et al. 2005b; chevaux : Hanggi 2010; McLean 2004; Murphy 2009; lémuriers : Deppe et al. 2009, résultats présentés dans le Tableau 1). Les résultats ainsi observés semblent montrer de fortes variations de capacités de mémoire de travail pour des items alimentaires d'une espèce à l'autre, ce qui tendrait à confirmer l'hypothèse selon laquelle différentes pressions évolutives conduiraient au développement et à la spécialisation de capacités cognitives différentes selon les espèces (Balda et Kamil 1998; Krebs et al. 1989; Haupt et al. 2010). Par exemple, la capacité de prédation requièrerait de bonnes capacités de mémoire de travail afin que l'individu soit capable de se représenter mentalement la position spatiale de sa proie pendant la chasse, même lorsque celle-ci sort de son champ visuel. Dans le cadre de tests de choix avec délai, on observe justement que les chiens et les chats sont parmi les animaux les plus performants en

terme de durée de mémoire de travail, alors qu'au contraire des animaux ayant un régime alimentaire à base d'éléments plutôt sessiles présentent les performances les plus faibles (ex. lémuriens et chevaux).

Par ailleurs, la quasi-totalité des études précédemment citées ne repose que sur l'utilisation d'items alimentaires, comme pour de nombreux autres tests cognitifs d'ailleurs. Les capacités de mémoire de travail dépendent de la nature des items à se représenter. Pour illustrer ce phénomène, on peut citer l'étude de Regolin et ses collaborateurs qui ont montré que de jeunes poules ont de meilleures performances de mémoire de travail pour des items sociaux que pour des items alimentaires (2005b). Les capacités de mémoire de travail pour des items non-alimentaires chez d'autres espèces sont très peu connues, mais on peut imaginer que la variabilité inter-spécifique des capacités de mémoire de travail serait également importante. En effet, les performances de mémoire de travail dépendent en partie de la motivation pour l'item à mémoriser, or, on sait que la motivation pour telle ou telle catégorie d'items varie en fonction de l'espèce concernée (ex. un item social pourrait avoir une pertinence plus grande chez une espèce sociale que chez une espèce non sociale).

Tableau 1 Présentation d'études ayant exploré les capacités de mémoire de travail chez l'animal à partir d'un paradigme de test de choix avec délai

Espèce	Référence	Délai maximum testé	Délai maximum testé avec succès	Nombre de localisations	Type d'item
Chien	Fiset et al. 2003	240 s	240 s	4	Alimentaire
Poule (poussin)	Regolin et al. 2005b	180 s	180 s (moins d'erreur avec l'item social)	2	Alimentaire ou social
Chat	Fiset and Dore 2006	60 s	60 s	4	Alimentaire
Âne	Baragli et al. 2011	30 s	10 à 30 s	2	Alimentaire
Cheval	Hanggi 2010	30 s	30 s	2	Alimentaire
Poule (poussin)	Regolin et al. 2005a	30 s	30 s	2	Alimentaire
Cheval	Murphy 2009	12 s	12 s	2	Alimentaire
Lémurien	Deppe et al. 2009	15 s	0 s	3	Alimentaire
Cheval	McLean 2004	10 s	0 s	2	Alimentaire

c) La mémoire à long-terme

La mémoire à long-terme d'un comportement appris permet de faire l'économie d'une nouvelle acquisition lorsqu'une situation est à nouveau favorable à l'apparition de ce comportement. La mémoire à long terme se caractérise par une large capacité et permet de retenir des informations (ex. réponse apprise) durant de longues périodes appelées *intervalles de rétention* (Bouton 2007).

La formation de la mémoire à long terme peut se décomposer en trois grandes phases théoriques : l'*acquisition*, la *consolidation* et le *rappel*. L'*acquisition* se réfère à l'encodage de l'information. Cet encodage se fait notamment grâce aux processus de mémoire de travail qui permettent temporairement de maintenir, manipuler et trier les informations perçues dans l'environnement. La consolidation est une étape clé pour le stockage des informations acquises. Elle se réfère à l'ensemble des modifications biologiques qui sous-tendent le transfert des informations de la mémoire à court-terme vers la mémoire à long-terme, conduisant ainsi à leur rétention (McGaugh 2000). Enfin, le rappel fait appel aux processus qui permettent de retrouver et restituer les informations précédemment acquises et consolidées.

Dans la pratique, les processus d'acquisition, de consolidation et de rappel ne sont pas toujours distinguables et peuvent prendre place en même temps, ou au moins partiellement. De même, les processus d'acquisition, de consolidation puis de rappel ne se succèdent pas toujours aussi unilatéralement d'un point de vue temporel. Par exemple, le rappel d'une information précédemment encodée et consolidée peut conduire à une nouvelle phase de consolidation, qu'on appelle généralement *reconsolidation*, et qui peut modifier la trace mnésique (Sara 2000; Nader et al. 2000). Ainsi, nous pensons qu'il est plus juste de parler de « prédominance » d'un type de processus donné lorsqu'on se réfère à une étape de la formation mnésique, tout en gardant à l'esprit que plusieurs types de processus peuvent prendre place en même temps.

(1) *Systèmes de mémoire à long-terme*

Chez l'Homme, on distingue généralement deux grands types de mémoire à long-terme : la mémoire *déclarative* (ou *explicite*, *cognitive*) et la mémoire *non-déclarative* (ou *implicite*,

procédurale) (Cohen et Squire 1980; Squire 2004). La mémoire déclarative se réfère à la mémoire dont le rappel se fait de manière consciente par le sujet qui peut ainsi le verbaliser. Au sein de la mémoire déclarative, on distingue la mémoire *épisode* et la mémoire *sémantique*. La mémoire déclarative épisode se réfère à la mémoire des faits et des événements vécus auparavant par l'individu, c'est-à-dire, la mémoire de ses expériences antérieures qui lui sont propres dont le rappel nécessite un voyage mental dans le temps (Squire 2004; Tulving 1972). La mémoire déclarative sémantique se réfère quant à elle à la mémoire des informations impersonnelles telle que la mémoire des faits et des concepts.

La mémoire non-déclarative ne prend pas la forme nécessairement d'un rappel conscient de faits ou d'évènements, mais se traduit plutôt par un ensemble de savoir-faire dont le rappel de ces informations n'est pas nécessairement conscient (ex. savoir conduire une voiture).

Chez l'animal, l'absence de verbalisation et le problème de la conscience rendent difficile la distinction claire entre mémoire déclarative et non déclarative. Néanmoins, des auteurs ont essayé de caractériser puis de modéliser chez l'animal certains types de mémoire présentant des similarités avec celles mises en évidence chez l'Homme, en se basant plutôt sur des règles opératoires et / ou sur les structures cérébrales impliquées dans chaque type de mémoire.

Ainsi, certaines caractéristiques de la mémoire déclarative pourraient être étendues aux modèles animaux. En particulier, l'encodage d'une mémoire se rapprochant du type déclaratif se ferait sous la forme de relations entre de multiples items et événements, permettant la comparaison des informations entre elles et une utilisation relativement flexible de ces informations dans des contextes variés (Squire 2004). Il faut rester cependant très prudent, car l'existence chez l'animal de mémoire similaire à la mémoire épisode au sens stricte du terme reste controversée. En effet, la mémoire épisode implique la représentation d'un événement unique qui inclut ce qui s'est passé, à quel endroit et à quel moment (*Quoi ? Quand ? Où ?*). Ces trois caractéristiques sont essentielles car elles modélisent l'aspect du « voyage mental dans le temps » qui caractérise la mémoire épisode telle que décrite chez l'Homme. Des auteurs ont testé la capacité des animaux à resituer un ou des événements du passé selon ces trois dimensions : un nombre restreint d'espèces a été testé et il ressort de ces études que certains animaux tels que certains corvidés, la mésange à tête noire, le rat et certains grands singes pourraient être capables de former ce type de mémoire (ex. Clayton et Dickinson 1998; Feeney et al. 2009; Zhou et Crystal 2009; Zinkivskay et al. 2009; Martin-Ordas et al. 2010)

Le concept de mémoire procédurale peut être plus aisément transposable chez l'animal. Bouton définit la mémoire procédurale comme la mémoire de la manière d'exécuter ou exprimer automatiquement un comportement particulier ou une tâche cognitive (2007). Elle est donc fortement liée à la mémoire des apprentissages, en particulier dans le cadre des conditionnements classiques.

D'autres distinctions entre différentes formes de mémoire à long-terme ont été faites chez l'animal en se basant sur des critères variés, tels que la nature de l'information encodée (ex. mémoire spatiale *de réponse vs. de place*, Hawley et al. 2011; Packard and McGaugh 1992, 1996; Packard 2009) ou les structures cérébrales impliquées (ex. mémoire *hippocampique vs. non-hippocampique*). Il en résulte de toutes ces classifications que deux grands types de mémoire à long-terme semblent généralement se dessiner chez l'animal. Comme nous l'avons vu, un premier type permettrait l'encodage de relations complexes entre plusieurs éléments et se rapprocherait en certains points du concept de la mémoire dite déclarative / explicite chez l'Homme. Un deuxième type consisterait en une mémoire pour laquelle les informations seraient encodées de manière plus simple, présentant ainsi un caractère plus rigide et automatique, et qui se rapprocherait du concept de la mémoire dite implicite / procédurale chez l'Homme. Dans le cadre des apprentissages instrumentaux, ce type de distinction peut également être fait dans ce sens où la stratégie dirigée vers un but implique l'encodage de relations causales et la représentation de but à atteindre, alors que la stratégie d'habitude prend plutôt la forme d'associations simples entre des stimuli.

La possibilité de discriminer les différents types de mémoire chez l'animal requiert en général l'utilisation de paradigmes expérimentaux spécifiquement développés dans ce but, voire même l'étude des mécanismes neurobiologiques sous-tendant ces formes de mémoire. Le terme seul de *mémoire à long-terme*, sans précision supplémentaire, reste donc largement utilisé dans les études portant sur d'autres modèles que les rongeurs ou les primates. Ce sera largement le cas dans le cadre de cette thèse car les tests que nous avons utilisés ne nous permettent pas de définir avec précision quel type de mémoire est sollicité et quelles associations se sont formées.

(2) *Capacités de la mémoire à long-terme chez l'animal*

Les capacités de mémoire à long-terme des animaux peuvent être évaluées selon deux dimensions : sa capacité en termes de « volume » et de durée (Pearce 2008).

(a) *Volume*

La mémoire à long-terme est souvent définie par les auteurs comme théoriquement illimitée en terme de volume d'informations stockées. Par le passé, plusieurs auteurs se sont penchés sur cette question chez l'animal. Les études conduites par Vaughan and Greene (1984) font partie de ces travaux pionniers et permettent d'illustrer ce phénomène. Ces auteurs ont soumis des pigeons à une série de tâches de discrimination visuelle dans une chambre de conditionnement instrumental où des images différentes leurs étaient proposées par paire, une image étant associée à la distribution d'aliment et l'autre neutre. Plusieurs paires d'images étaient proposées à répétition au sein d'une procédure (40 paires au total). Au fil de l'apprentissage, les pigeons étaient devenu capables de choisir correctement l'image associée précédemment à de la nourriture, parmi les deux proposées, et ce malgré le nombre important de paires d'images présentées. Suivant ce même paradigme, des procédures utilisant jusqu'à 320 paires d'images ont été utilisées et les pigeons ont continué à discriminer correctement les images, allant ainsi dans le sens d'une étendue quasi illimitée de la mémoire à long-terme en terme de nombre d'items ou de volume d'informations mémorisées. Cependant, il faut noter que les durées d'entraînement des animaux ont été très longues, ce qui suggère qu'un nombre théoriquement infini d'items peut être stocké, mais nécessiterait un respect des phases d'acquisition et de consolidation de la mémoire à long-terme pour chaque élément. La mémoire de travail, notamment, a un rôle central dans la phase d'acquisition de la mémoire à long-terme. Comme nous l'avons vu précédemment, elle est limitée à la fois en termes de capacité et de durée. Cela implique qu'à un moment donné, un nombre limité d'informations peut-être maintenu en phase d'acquisition et peut donc être potentiellement consolidé ensuite vers une forme de mémoire plus durable. Un volume important d'informations ne peut donc pas être acquis et consolidé simultanément.

(b) *Durée*

La durée maximale de la mémoire à long terme a souvent été testée en soumettant un animal à un test de rappel après un intervalle de rétention donné. L'étude de la mémoire à très long-terme, après plusieurs années, n'est pas toujours facile d'un point de vue pratique car elle nécessite de garder des animaux disponibles d'un point de vue expérimental durant de très

longues périodes, mais elle permet de récolter des données importantes sur la durée maximale que peut potentiellement présenter une trace mnésique. Les travaux de Vaughan and Greene (1984) peuvent ici encore être cités. En effet, les pigeons de leurs études se sont révélés être capables de discriminer correctement les images après un délai de 2 ans. De la même manière, Kendrick et ses collaborateurs (2001) ont observé que des moutons sont capables de discriminer significativement des paires de photographies de visages de congénères après des intervalles de rétention d'au moins 2 ans. Des délais de rétention de plusieurs années ont été également testés avec succès chez de nombreuses autres espèces animales (intervalle de rétention maximal testé avec succès chez le singe écureuil, 2 ans : Burdyn et al. 1984; macaque Rhesus, 7 ans : Johnson et Davis 1973; éléphant, 8 ans : Markowitz et al. 1975; gorille, 2,5 ans : Patterson et Tzeng 1979; lion de mer, 10 ans : Kastak et Schusterman 2002). Dans la plupart des cas, les animaux sont significativement capables de se rappeler de l'information même après les intervalles de rétention les plus longs qui ont été testés. Cela suggère que la durée maximale d'une trace mnésique peut potentiellement s'étendre à l'échelle d'une vie. Bien entendu, cela ne signifie pas que toutes les informations contenues dans la mémoire à long-terme pourront être rappelées correctement quelque soit le délai.

En conclusion, les capacités de mémoire à long terme chez l'animal semblent être, comme chez l'Homme, d'une grande étendue, aussi bien en termes de volume que de durée. Cependant, de si grandes performances impliquent que les trois étapes clés de la formation d'une mémoire à long terme se sont correctement établies : l'acquisition, la consolidation et le rappel. Les limites de la mémoire à long-terme ne résideraient donc pas dans une limite de la capacité globale de stockage, mais dépendraient plutôt du déroulement correct et optimal des processus d'acquisition, de consolidation (y compris de reconsolidation) et de rappel pour chaque type d'information.

5. Variabilité interindividuelle des performances d'Apprentissage et Mémoire

Les différences interindividuelles sont un phénomène largement observé aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. Dans le domaine de la cognition, de nombreux auteurs observent d'importantes variations interindividuelles de performances d'apprentissage et de mémoire. Cette variabilité a un impact direct sur les performances des individus dans un environnement changeant et complexe, et sous-tend ainsi la sélection naturelle (Amy et al. 2012). Pourtant,

cette variabilité interindividuelle a longtemps été négligée dans les études car considérée comme un « bruit de fond ». Cependant, depuis une dizaine d'années on observe un intérêt croissant pour l'étude de cette variabilité : de plus en plus d'auteurs cherchent désormais à comprendre et à expliquer l'origine de cette variabilité interindividuelle de performances cognitives. Pour cela, des chercheurs ont mis en évidence des relations entre performances cognitives et plusieurs types de caractéristiques individuelles, comme le sexe (synthèse dans le cadre de conditionnements Pavloviens et instrumentaux : Dalla et Shors 2009), le statut social (ex. Fitchett et al. 2005; Drea et Wallen 1999; Barnard et Luo 2002), l'environnement de vie (synthèse : Rosenzweig et Bennett 1996) ou encore les traits de tempérament. Les relations entre les performances cognitives et le tempérament étant le cœur de ce travail de thèse, elles seront décrites dans une partie suivante (voir partie C), après une présentation générale du concept de tempérament (voir partie B).

B. Tempérament

1. Généralités sur le tempérament

a) Définition

Le tempérament est un concept qui trouve ses origines dans la Psychologie et qui a été développé et étudié à la fois chez l'Homme et chez l'Animal (Reale et al. 2007). Le tempérament désigne *l'ensemble des caractéristiques comportementales stables au cours du temps et à travers les situations, et qui sont propres à chaque individu* (Goldsmith et al. 1987; Bates 1989; Gosling et John 1999). Bien que le tempérament chez l'animal ait été largement étudié, et chez de nombreuses espèces (Gosling et John 1999; Gosling 2001), un manque de consensus sur la terminologie employée persiste dans ce domaine (Reale et al. 2007; Bell et al. 2009; Gartner et Weiss 2013). Le terme de *personnalité* est également utilisé par les auteurs pour désigner les différences interindividuelles stables à travers le temps et les situations (Gosling et John 1999; Gosling 2001; Briffa et Weiss 2010; Ogden 2012). Une distinction de nature relativement théorique entre tempérament et personnalité est souvent faite chez l'Homme : le tempérament serait « le matériel brut dont est tiré la personnalité » (Allport 1937). En résumé, le terme de tempérament serait préférentiellement utilisé chez

l'enfant, chez lequel on observerait une forte influence des facteurs biologiques (notamment génétiques), et le terme de personnalité serait préférentiellement utilisé chez l'adulte, chez lequel les influences de l'environnement social et culturel se seraient ajoutées au cours du développement (Strelau 1983). Ce genre de distinction est parfois faite chez l'animal ; le tempérament se référerait plutôt à l'animal à sa naissance et la personnalité serait la résultante du développement. Cependant, dans une majorité de cas les termes de tempérament et de personnalité sont utilisés indifféremment (Reale et al. 2007; Bell et al. 2009; Gartner et Weiss 2013). Dans le cadre de cette thèse, nous avons choisi d'utiliser le terme « tempérament » afin de conserver la même terminologie que dans les études menées chez le cheval qui ont précédé ce travail de thèse (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c; Lansade et Simon 2010).

Les concepts très voisins de *Syndrôme Comportemental* (Evans et al. 2010; Sih et al. 2012; Sih et Del Giudice 2012; Wesley et al. 2012) et de *Coping Styles* (Koolhaas et al. 1999; Koolhaas et al. 2010) sont également rencontrés dans les études et font également appel au concept de différences interindividuelles présentant un caractère stable à travers le temps et les contextes. Le terme de syndrome comportemental est plutôt utilisé afin de se référer à un ensemble de traits de tempérament dans un contexte écologique. Le terme de « coping styles » peut être défini comme un ensemble de traits comportementaux, sociaux et cognitifs corrélés entre eux et déterminant les stratégies comportementale et physiologique mises en jeu dans des situations de stress. On parle de styles « proactif » (animaux actifs, prompts à réagir et généralement dominants) et « réactif » (animaux passifs, sensibles et généralement non-dominants, voir Koolhaas et al. 1999). Les concepts de syndrome comportemental et de « coping style » reposent souvent sur la description de profils où plusieurs aspects du tempérament sont analysés conjointement et considérés comme un tout. Les concepts de tempérament (personnalité) reposent davantage sur l'établissement de modèles où plusieurs aspects du tempérament (ou dimensions, super-traits) sont décrits indépendamment des uns des autres.

b) Structure d'un modèle de tempérament

Le tempérament d'un individu peut être défini selon plusieurs « traits » ou « dimensions ». Selon Eysenck (1967), un modèle de tempérament présente une structure hiérarchique qui

sépare les différents aspects du tempérament selon trois niveaux : l'*état*, le *trait* puis la *dimension*.

- *L'état* d'un individu s'observe de manière ponctuelle, lors d'une situation et d'un moment précis. Par exemple, on peut parler d'un état de peur lors d'une situation effrayante donnée.
- *Le trait* peut être défini par la propension d'un individu à manifester un même état à travers plusieurs situations présentant des similarités et de manière relativement constante au cours du temps. Par exemple, on peut parler de « trait » de « réactivité à la nouveauté » lorsqu'un individu manifeste des états de peur à travers plusieurs situations nouvelles.
- *La dimension* ou super-traits regroupe plusieurs traits qui sont corrélés entre eux. Plusieurs dimensions sont théoriquement indépendantes entre elles. Chez le cheval par exemple, les traits de « réactivité à la nouveauté » et de « réactivité à la soudaineté » sont corrélés et forment la dimension de « peur » (Lansade et al. 2008a) et la dimension de « peur » est indépendante de la dimension de « grégarité » (Lansade 2005). La notion de dimension n'est pas systématiquement abordée et explorée dans les études, bon nombre d'auteurs se cantonnant à l'étude de « traits » sans nécessairement tester les corrélations entre eux. Le terme de trait sera donc souvent repris dans la suite de l'introduction.

2. Le tempérament chez l'animal

Le tempérament s'observe dans des groupes phylogéniques variés, comme les mammifères (Gartner et Weiss 2013; Von Borstel 2013), les oiseaux (Evans et al. 2010; Amy et al. 2012; Bokony et al. 2012), les poissons (Budaev et Zhuikov 1998; Dugatkin et Alfieri 2003) et même les invertébrés comme les arthropodes (Briffa et al. 2008; Watanabe et al. 2012) ou les céphalopodes (Mather et Anderson 1993) (pour des synthèses détaillées, voir Gosling et John 1999; Gosling 2001). L'étude du tempérament chez l'animal est également intéressante d'un point de vue appliqué. Les applications découlant des études sur le tempérament sont larges, allant de l'amélioration du bien-être et de la production animale, en passant par la pharmacologie et la biologie de la conservation (McDougall et al. 2006; Reale et al. 2007). Ces applications ont eu pour conséquence de concentrer davantage l'étude du tempérament sur certaines espèces, comme les primates non-humains par exemple, du fait de leur proximité

phylogénique avec l'Homme, et chez qui près de 210 articles ont été recensées (synthèse : Freeman et Gosling 2010). Dans une perspective de bien-être animal et d'amélioration de la relation homme-animal, le tempérament d'espèces domestiques a également été bien étudié, parmi lesquelles le chien (plus de 50 articles, synthèse : Jones et Gosling 2005) et, dans une moindre mesure, le chat (synthèse sur les félins : Gartner et Weiss 2013) et la plupart des animaux d'élevage (ex. ovins : Ligout et al. 2011; cochons : Yoder et al. 2011; bovins : Sutherland et al. 2012; synthèse chez le cheval : Von Borstel 2013; thèse chez le mouton : Viérin 2002).

3. Les principaux traits et dimensions de tempérament étudiés chez l'animal

Comme évoqué dans le paragraphe précédent, une multitude de traits et dimensions de tempérament a été observée chez un grand nombre d'espèces. La multiplication des études a eu pour conséquence l'émergence de variations importantes dans les termes employés : un même trait ou dimension pouvant être désigné par différents labels, et un même label pouvant décrire des traits relativement différents d'une étude à l'autre (Reale et al. 2007; Briffa et Weiss 2010; Gartner et Weiss 2013). Malgré tout, nous observons que parmi tous ces traits et dimensions mis en évidence, certains semblent être communs à de nombreuses espèces, alors que d'autres semblent plus spécifiques (Gosling et John 1999; Gosling 2001).

Les traits de tempérament les plus largement étudiés sont probablement ceux relatifs aux réactions de *peur* (Campler et al. 2009). De manière générale, on peut estimer que ces traits se réfèrent à ce que les auteurs appellent la *peur* (Miller et al. 2006; Lansade et al. 2008a; Calandreau et al. 2011; Boulay et al. 2013) mais qu'ils recourent aussi, au moins partiellement, ce que certains auteurs désignent par le terme de *timidité-hardiesse* (Dugatkin et Alfieri 2003), d'*évitement-exploration* (Guillette et al. 2011), d'*émotivité* (Wolff et al. 1997; Lesimple et al. 2011a), ou de prise de *risque* (Davis et al. 2009). Globalement, tous ces traits se réfèrent à la propension des individus à réagir à des situations de peur, à éviter ou approcher des stimuli nouveaux et à prendre des risques dans diverses situations de challenge. Classiquement, ces traits sont évalués expérimentalement en soumettant les individus à des situations de nouveauté, comme le test de l'*open-field* ou de l'objet nouveau par exemple (Reale et al. 2007), mais des tests plus spécifiques, comme le test d'immobilité tonique chez l'oiseau, existent également (Mills et Faure 1991; Richard et al. 2000). Les comportements de

peur ont une part importante dans la survie des individus, puisqu'ils permettent de percevoir et répondre à toute sorte de situations de menace pour l'organisme (ex. stratégie anti-prédatrice). Cela expliquerait pourquoi des traits de tempérament relatifs à la peur se retrouvent à travers de nombreux phyla parfois très éloignés (Gosling et John 1999; Gosling 2001).

Les traits de tempérament relatifs aux comportements sociaux ont également été mis en évidence chez de nombreuses espèces. Il s'agit principalement de l'*agressivité* d'une part et de la *sociabilité* d'autre part (Reale et al. 2007). L'*agressivité* se réfère à la propension d'un individu à exprimer des comportements agonistiques envers ses congénères. Il s'agit d'un trait que l'on observe aussi bien chez des poissons (Huntingford 1976 in Reale et al. 1976) que chez des mammifères (Haverbeke et al. 2010). Les comportements d'agressions, sans être nécessairement qualifiés de traits de tempérament, sont largement étudiés dans les études portant sur l'écologie ou l'évolution car ils jouent un rôle important dans la régulation des relations de dominance et dans les aptitudes compétitives des individus (ex. accès aux ressources alimentaires, au territoire et à la reproduction Reale et al. 2007). Expérimentalement, l'*agressivité* est généralement évaluée lors de tests impliquant la rencontre entre au moins deux congénères. Par exemple, le trait «d'*agressivité*» chez le cochon (Erhard et Mendl 1997; Erhard et al. 1997) peut être mesuré à partir du test de «résident-intrus» consistant à restreindre un individu dans la moitié de son box de vie (résident), à faire entrer un cochon étranger dans l'autre moitié (intrus) et de mesurer la latence d'attaque du résident (Erhard et Mendl 1997).

La *sociabilité* se réfère quant à elle à la propension des individus à réagir à la présence et à l'absence de leurs congénères, à l'exclusion des comportements d'agression (Reale et al. 2007). Ainsi les individus sociables seront ceux qui vont le plus chercher à approcher leurs congénères et vont réagir le plus fortement à leur absence, alors que les individus les moins sociables auront au contraire tendance à éviter leurs congénères. Parmi les traits relatifs à la *sociabilité*, on peut noter la *motivation sociale* qui peut être évaluée en mesurant l'effort qu'un individu est capable de fournir afin de rejoindre un ou des congénères (ex. test du tapis roulant chez la caille : Schweitzer et Arnould 2010; Schweitzer et al. 2011). On peut également noter les traits de *réactivité à l'isolement social*, ou *grégarité*, qu'on peut évaluer en mesurant la réaction d'un individu à la séparation d'avec ses congénères (exemple chez les bovins : Le Neindre et al., 1995, chez le cheval : Lansade et al. 2008b; chez les ovins : Guesdon et al. 2012).

La dimension d'*activité* est également largement observée chez de nombreuses espèces. L'*activité* fait référence au niveau général de l'activité locomotrice d'un individu. Cette dimension est importante à considérer car elle peut dans une certaine mesure interférer sur de nombreuses mesures comportementales (Reale et al. 2007), comme le niveau d'exploration par exemple, ou encore sur la rapidité à naviguer dans un labyrinthe. L'*activité locomotrice* peut être évaluée à partir de la distance parcourue par un animal dans un test d'*open-field* (ex. mouton : Moberg et Wood 1982; poulet : Jones et al. 1991; caille : Jones et Andrew 1992).

La liste des traits et dimensions énoncée précédemment n'est évidemment pas exhaustive. Certains traits de tempérament sont plus spécifiques à certains groupes d'espèces animales. Le caractère *conscientieux* par exemple, décrit chez l'Homme, n'a été mis en évidence que chez certains primates non-humains (Gosling et John 1999). La mise en évidence et la description de traits et dimensions de tempérament doit donc se faire au sein de chaque espèce. Ainsi, des modèles de tempérament spécifiques ont été décrits chez le chien (Svartberg et Forkman 2002) le cheval (Lansade 2005) ou encore le moineau domestique (Bokony et al. 2012). Si on développe l'exemple du chien, on constate que les auteurs ont mis en évidence cinq traits : le caractère joueur, le caractère chasseur, la curiosité / peur, la sociabilité et l'agressivité (Svartberg et Forkman 2002). On retrouve donc ainsi des traits de tempérament relativement spécifiques, ceux liés au jeu et à la chasse, et d'autres communs à de nombreuses espèces, comme décrits précédemment.

Parmi les modèles de tempérament existants, il existe chez l'homme un modèle appelé « *Big-five* » (Digman 1990; Goldberg 1990; Costa et McCrae 1992) dont de nombreux auteurs se sont inspirés pour développer des modèles de tempérament chez l'animal (Gosling et John 1999; Reale et al. 2007). Le modèle « big-five » se définit selon cinq dimensions (définitions à partir de John 1990; Costa et McCrae 1992; Gosling et John 1999):

- *Introversi*on – *extraversi*on : l'*extraversi*on peut être définie par la recherche de stimulations et d'émotions positives, alors que l'*introversi*on est caractérisée par un comportement plus calme, moins actif et moins dépendant socialement. Les traits associés à l'*extraversi*on seraient la sociabilité et l'*activité*.
- *Névrosisme* – *stabilité* : le *névrosisme* se caractérise par un comportement anxieux, irritable et sensible aux émotions négatives, à l'inverse de la *stabilité* émotionnelle qui lui est opposée. Les traits associés au *névrosisme* seraient l'anxiété, la dépression et la vulnérabilité au stress.

- *Agréabilité* : l'agréabilité se caractérise à la fois par la confiance en autrui, une tendance à la coopération et un optimisme vis-à-vis de la nature humaine. Les traits associés à l'agréabilité seraient la confiance, la coopération et l'absence d'agression.
- *Ouverture à l'expérience* : cette dimension se caractérise par l'ouverture aux expériences à la fois cognitives et non-cognitives. Les traits associés à l'ouverture d'esprit sont les idées/l'intellect, l'imagination, la créativité et la curiosité.
- *Caractère consciencieux*: un tempérament consciencieux se caractérise par son ambition, son implication dans le travail et sa recherche de réussite. Les traits associés au caractère consciencieux seraient la délibération, l'autodiscipline, le sens du devoir et l'ordre.

Dans son article de synthèse, Gosling and John (1999) mettent en évidence les études chez l'animal qui ont visé à caractériser des modèles de tempérament en se basant sur la totalité ou une partie de ces traits, selon les espèces. Ainsi, on observe que le caractère consciencieux n'est observé que chez des chimpanzés (Bard et Gardner 1996; King et Figueredo 1997), alors que des traits reliés aux dimensions de névrosisme, agréabilité et extraversion ont été mis en évidence dans divers taxons, allant des primates (ex. peur chez le gorille : Gold et Maple 1994) aux poissons (ex. peur chez le guppy: Budaev 1997), en passant par les invertébrés (ex. réactivité chez le poulpe rouge : Mather et Anderson 1993). En se référant à ce modèle de tempérament, King and Figueredo (1997) ont montré que les chimpanzés pouvaient être définis selon leur degré de stabilité émotionnelle, leur agréabilité, leur extraversion, leur ouverture aux expériences et leur caractère consciencieux.

4. Comment mesurer le tempérament ?

a) Les questionnaires

Historiquement, les outils d'évaluation du tempérament ont été d'abord développés chez l'Homme par des psychologues et il en résulte que le questionnaire est l'outil le plus largement utilisé dans ce contexte. Le questionnaire a été ensuite utilisé chez l'animal, essentiellement chez des animaux domestiques. L'utilisation des questionnaires a l'avantage de permettre de récolter rapidement beaucoup de données avec une vision intégrative reposant sur une longue période d'observation et d'intégrer les connaissances des soigneurs des animaux sur le terrain (Ijichi et al. 2013). Cependant, une utilisation correcte des

questionnaires impose un certain nombre de prérequis. D'une part, la personne qui remplit le questionnaire doit être à la fois être familière de l'animal en question, mais également d'autres individus de la même espèce afin de pouvoir les comparer entre eux. La notion de *relativité* du tempérament est essentielle dans le cadre de son évaluation, quelque-soit la méthode utilisée : lorsqu'on évalue le tempérament d'animaux, l'objectif est en fait de placer le tempérament de l'animal par rapport aux autres individus de la population. D'autre part, si plusieurs personnes remplissent des questionnaires, leurs échelles de notation doivent être équivalentes. Enfin, le questionnaire doit être préalablement validé par une comparaison à des observations comportementales (ex. cheval : Seaman et al. 2002; Momozawa et al. 2007; Ijichi et al. 2013; chimpanzé : Pederson et al. 2005; chien : Svartberg 2005; Ley et al. 2009). Cependant, même si le risque de subjectivité inhérent à ce type d'échantillonnage peut être anticipé et limité, cette méthode d'évaluation du tempérament reste peu applicable dans beaucoup de cas. Notamment, elle ne peut pas être utilisée dans le cas de populations d'animaux ne partageant pas de relation privilégiée avec un ou des humains particuliers, comme dans le cas d'animaux vivant en conditions sauvages ou semi-naturelles, évidemment, mais aussi dans le cas de certains animaux d'élevage vivant dans de grandes structures (bovins, ovins, volailles ou encore mouton).

b) L'observation de l'animal dans son milieu

Cette méthode a parfois été utilisée pour évaluer le tempérament d'animaux sauvages ou vivants en conditions semi-naturelles. Son avantage est que la question de la pertinence écologique des situations rencontrées par l'individu ne se pose pas dans ces conditions. Cependant, évaluer le tempérament dans ce cadre est difficile car tous les animaux ne sont pas toujours observés dans les mêmes conditions et ne font pas face aux mêmes situations, et ne sont donc pas toujours comparables. Cependant, des situations intermédiaires ont été observées. Notamment, l'observation des animaux dans leur milieu de vie, mais maintenus dans un espace relativement restreint et contrôlé, permet de faciliter l'observation des animaux tout en évitant les manipulations (ex. macaques rhésus dans des enclos extérieurs de 35 mètres de côté, Maestripiéri 2000). Cependant, même dans ces conditions, ce type d'échantillonnage présente également l'inconvénient de demander beaucoup de temps pour l'évaluation du tempérament de chaque animal.

c) Les tests comportementaux

L'utilisation de tests comportementaux semble être préférable dans le cadre d'une démarche expérimentale. Elle consiste à placer des animaux dans des situations contrôlées où leur comportement sera enregistré puis analysé. De nombreux tests de tempérament ont été développés à travers bon nombre d'espèces animales. Plusieurs exemples ont été cités lors de la présentation des principaux traits de tempérament rencontrés.

L'un des tests les plus classiques et les plus anciens est le test d'*Open-field* (Hall 1934). Il consiste à placer un animal en isolement social au sein d'une aire dégagée et à relever son comportement tel que le niveau d'activité, les défécations, les postures d'alerte ou encore les vocalisations. Ce test est utilisé pour mesurer différents traits tels que l'activité, la peur ou encore la réactivité à l'isolement social. Son utilisation est parfois critiquée car il est justement parfois difficile d'isoler l'influence d'un trait de tempérament en particulier sur l'ensemble des réactions de l'animal (ex. réactivité à la nouveauté *vs.* réactivité à l'isolement social).

Certains tests plus spécifiques doivent être utilisés et certaines précautions doivent être prises. Par exemple, un test d'isolement social doit être réalisé dans un environnement auquel l'animal a été préalablement habitué, afin de limiter l'impact de la peur sur la mesure comportementale. De la même manière, la présence passive de congénères lors de tests de peur évitent l'interférence de la réactivité à l'isolement social. Actuellement, une grande partie des tests utilisés mesure spécifiquement un seul trait de tempérament (Ijichi et al. 2013; ex. hardiesse: Svartberg 2002; Coleman et Wilson 1998; émotivité : LeScolan et al. 1997).

L'avantage de l'utilisation de tests de tempérament réside dans une démarche de quantification objective et éthologique du tempérament contrairement à l'utilisation de questionnaires. En revanche, elle implique d'importantes manipulations des animaux, avec des tests multiples, qui peuvent créer un risque d'interférences entre les mesures. Enfin, les tests concentrent l'observation des animaux sur une période très courte. Le tempérament est en effet constant par définition, mais certaines variations dans son expression comportementale peuvent être observées du fait d'événement ponctuels particuliers. Il faut donc être très prudent et prévenir au maximum tout événement inhabituel ou tout changement de routine qui placerait l'animal dans un état particulier qui fausserait les mesures (ex. état de stress suite à un environnement nouveau, état d'excitation à la présence de nourriture...)

5. Influences génétiques et environnementales sur le tempérament

a) Influences génétiques

Le tempérament est connu pour avoir une origine génétique. Cela a été montré chez l'animal grâce à des études portant sur la comparaison de lignées ou de races, sur la recherche d'effets parentaux et sur le calcul d'indices d'héritabilité. En effet, il a été montré que sélectionner des animaux selon des traits de tempérament particuliers (ex. peureux *vs.* moins peureux) peut conduire à la création de lignées d'animaux différant de par leur tempérament (ex. rat : Broadhurst 1975; Liebsch et al. 1998; souris : Defries et al. 1978; caille japonaise : Mills et Faure 1991). Si on prend l'exemple du cheval, le tempérament des animaux dépend notamment de leur race (Lloyd et al. 2008; von Borstel et al. 2012) et de leur père (Wolff et Hausberger 1996; Wolff et al. 1997; Hausberger et al. 2004). Enfin, chez cette même espèce, des études ont récemment mis en évidence l'héritabilité de certains traits de tempérament tel que la réaction à de nouveaux objets ($h^2=0.17-0.90$) et la réaction lors de manipulation ($h^2=0.23-0.28$) (Von Borstel 2013). Le tempérament aurait donc bien une base génétique ce qui rend possible sa sélection dans l'élevage.

b) Influences environnementales

L'environnement et l'expérience d'un individu ont également un rôle majeur dans le développement, la mise en place et l'évolution de son tempérament. Chez l'animal, plusieurs auteurs ont mis en évidence que l'expérience, notamment précoce, pouvait influencer le tempérament (synthèse : Mason 2000).

Chez l'animal domestique, des études ont porté sur l'influence de la présence et des manipulations par l'homme sur le jeune. Ainsi, la présence de l'homme associée à des événements positifs et / ou des contacts positifs comme des caresses diminuent durablement la réactivité à l'Homme et le niveau de peur du jeune par la suite (Heird et al. 1981; Heird et al. 1986b; McCann et al. 1988b; Jezierski et al. 1999; Simpson 2002; Henry et al. 2006), alors que des expériences négatives avec l'Homme ou des manipulations contraintes trop précoces auraient l'effet contraire (Henry et al. 2006; synthèse chez les bovins, porcins et oiseaux d'élevage : Rushen et al. 1999).

De manière plus générale, il a aussi été montré que le milieu de vie a un impact sur le tempérament de l'animal. Un enrichissement social (vivre au sein de larges groupes) et

physique (abris, boîtes et objets nouveaux) du milieu de vie, quelques semaines avant ou après la période de sevrage, diminue de manière durable la peur chez le rat (Pena et al. 2009; Harris et al. 2010).

Enfin, au cours de la vie d'un individu, certaines périodes pourraient être plus propices aux influences extérieures, comme les premières semaines de vie (ex. agneaux : Boivin et al. 2001; veaux : Krohn et al. 2001), ou encore la période de sevrage chez le cheval (Lansade et al. 2004).

6. L'étude du tempérament dans un contexte plus large

D'un point de vue écologique et évolutif, l'étude du tempérament est particulièrement intéressante puisque la variabilité interindividuelle est l'un des moteurs des mécanismes évolutifs (Reale et al. 2007; Dall et al. 2012; Sih et al. 2012; Sih et Del Giudice 2012; Wolf et Weissing 2012). Pourtant, des auteurs déplorent que le concept de tempérament soit encore trop peu exploré dans le champ disciplinaire de l'Ecologie et de la Biologie Evolutive, évoquant comme premier obstacle le manque de cohérence de la terminologie employée entre les études, comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent (ex. *tempérament* ou *personnalité* ?) et comme nous le verrons par la suite dans les termes employés pour désigner des traits de tempérament (Reale et al. 2007). D'autre part, un autre obstacle à l'intégration du concept de tempérament proviendrait du fait que la stabilité du tempérament a souvent été mise en opposition à la notion de plasticité comportementale (Dingemanse et al. 2010). Pourtant, de nouvelles approches permettent de caractériser un individu par un panel de comportements qu'il pourrait exprimer selon un ensemble de différentes conditions environnementales (*réaction de norme comportementale* en fonction d'un gradient environnemental), et non pas par une seule donnée figée. Les auteurs défendent ainsi l'idée que la plasticité et le tempérament ne sont pas des phénomènes indépendants et exclusifs, mais qu'ils agissent au contraire en synergie (Briffa et Weiss 2010; Dingemanse et al. 2010). En d'autres termes, le tempérament n'implique pas qu'un individu va répondre de la même manière quelque soit la situation, mais plutôt que son tempérament détermine un ensemble de réactions, ou degré de plasticité, qui lui sera propre et qu'il lui permettra d'adapter son comportement en fonction du contexte.

Les différences de tempérament des individus sont reliées à des différences dans d'autres paramètres, comme la gestion des ressources alimentaires, le comportement maternel, le comportement social, la relation homme-animal ou encore les performances cognitives en ce qui nous concerne. Par exemple, le tempérament est relié à la manière dont un individu s'adaptera dans son environnement naturel, influençant sa manière de réagir à la prédation, sa gestion des ressources et ses interactions sociales (voir synthèse de Reale et al. 2007). Par ailleurs, de nombreux travaux ont été menés sur l'influence du tempérament des mères sur leur comportement maternel, notamment chez des espèces domestiques. Chez le mouton, des études ont montré que les brebis les moins peureuses ont un meilleur taux de succès en terme d'agneaux menés jusqu'au sevrage que les plus peureuses (Murphy et al. 1994; Kilgour 1998). Concernant le comportement social, des études montrent que le niveau de peur est relié au statut social, les individus les plus hardis étant généralement les plus dominants, mais l'inverse étant également observé (Mettler et Shivik 2007; Darrow et Shivik 2009). Le tempérament des animaux peut avoir un impact sur le comportement lors de leur utilisation par l'Homme. Par exemple, le tempérament de chiens de race de travail est relié à leur capacité de travail, les chiens les plus hardis étant plus performants (Svartberg 2002). Enfin, des liens entre tempérament et performances cognitives ont été mis en évidence chez différentes espèces, et seront abordés dans la partie suivante.

C. Influence du tempérament sur les performances d'Apprentissage et de Mémoire

1. Les différentes approches expérimentales

Pour caractériser les liens entre des traits ou dimensions de tempérament et les performances cognitives, deux types d'approches sont observées.

Une approche expérimentale, qualifiée de « bimodale », se base sur la comparaison de performances cognitives de deux groupes, ou plus, se caractérisant par des traits de tempérament opposés. Cette approche a été utilisée principalement chez les rongeurs où les souches de souris ou de rats différant par leurs profils de tempérament sont souvent comparées entre elles (exemples : Brinks et al. 2007; Norcross et al. 2008; Servatius et al. 2008; Beck et al. 2010; Beck et al. 2011; Jiao et al. 2011; Lederle et al. 2011; Malkki et al. 2011). Cette méthode semble se justifier par le fait qu'au sein d'une même souche, les

individus ont été sélectionnés et croisés entre eux dans l'objectif de limiter au maximum la variabilité interindividuelle, aussi bien au niveau comportemental, neurophysiologique que génétique. Cependant, des approches plus nuancées de l'influence du tempérament sur les performances d'apprentissage est possible, même chez le rongeur de laboratoire (exemple : Hawley et al. 2011).

Une autre approche consiste à considérer que pour un même trait de tempérament, les individus se distribuent le long d'un continuum entre deux extrêmes plutôt que de manière dichotomique (par exemple, le continuum timidité-hardiesse : Wilson et al. 1994). Dans de nombreuses études, les relations entre tempérament et performances d'apprentissage et de mémoire sont donc abordées avec cette notion de continuum. Ainsi, l'influence du tempérament sur des paramètres cognitifs n'est pas évalué en comparant des groupes différents par leur tempérament, mais plutôt par l'intégration de mesures individuelles de tempérament et de cognition qui peuvent ensuite être analysées conjointement, par exemple par le biais d'analyses corrélationnelles ou multifactorielles.

2. Influence des traits / dimensions de tempérament sur les performances d'apprentissage

La recherche des liens entre tempérament et différents aspects de la cognition a connu un intérêt grandissant au cours de ces dix dernières années, mais reste encore peu connu chez l'animal (Sih et Del Giudice 2012). La plupart des études se sont focalisées sur l'influence d'un seul trait de tempérament à la fois. Dans ce contexte, les traits de tempérament de peur / hardiesse-timidité ont été les plus largement étudiés. De même que pour les études portant exclusivement sur le tempérament, l'explication de ce phénomène vient sans doute du fait que ces traits sont communs à de nombreuses espèces animales de groupes phylogéniques variés et possèdent une forte valeur adaptative.

a) L'influence du tempérament sur l'acquisition d'apprentissages

(1) Influence de traits relatifs à la peur

Les résultats concernant l'influence de traits relatifs à la peur sur l'acquisition d'apprentissages sont contrastés. Dans une majorité d'étude, on observe que ce sont les

individus les moins peureux et plus hardis qui apprennent le mieux et / ou le plus rapidement différents types d'apprentissage (Sih et Del Giudice 2012). Parmi ces études montrant un effet négatif de la peur, on peut citer celles de Scheid and Noë (2010) et de Range et ses collaborateurs (2006) qui montrent chez deux espèces de corvidés, respectivement le corbeau freux et le grand corbeau, que ce sont les individus les moins peureux qui sont les plus performants lors de l'acquisition d'une tâche instrumentale de coopération et de discrimination. Des résultats similaires ont également été observés chez des mammifères (rats, évitement actif et apprentissage spatial : Brush et al., 1985; Herrero et al. 2006; cheval, tâches instrumentales : Lansade et Simon 2010; Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997). Cet effet négatif de la peur est en général expliqué par les auteurs par le fait que les individus moins peureux pourraient être avantagés car ils auraient tendance à aller davantage vers le dispositif expérimental et à essayer de répondre plus rapidement à la tâche que les individus plus peureux / timides (Sih et Del Giudice 2012; Scheid et Noë 2010). Une autre explication pourrait être que les individus les moins peureux seraient davantage concentrés vers la tâche d'apprentissage car ils seraient moins sensibles aux stimulations de l'environnement extérieur que les individus les plus peureux, et leur attention vers la tâche serait donc moins susceptible d'être perturbée. Au contraire, les individus peureux pourraient être plus facilement distraits du fait que ces animaux ont tendance à scruter leur environnement dans le but de détecter un éventuel danger.

Cependant, dans certains cas, les individus les plus peureux peuvent être les plus performants. Par exemple, les cailles japonaises provenant d'une lignée au tempérament peureux sont plus rapide à acquérir une tâche d'évitement passif que les cailles provenant d'une lignée moins peureuse (Richard et al. 2000). De la même manière, des chevaux et des guppys au tempérament peureux sont les meilleurs dans l'acquisition de tâches d'évitement actif (Budaev et Zhuikov 1998; Lansade et Simon 2010). Ces résultats suggèrent que la relation entre la peur et l'acquisition d'apprentissages n'est pas si simple et dépendrait de multiples facteurs. Plusieurs explications à cet effet positif du stress peuvent être énoncées.

Tout d'abord, dans leur article de synthèse, Sih et Del Giudice (2012) suggèrent que les individus les moins peureux / plus hardis pourraient être plus rapides à apprendre des tâches qui requièrent un haut niveau d'activité, mais moins rapide à apprendre des tâches qui nécessitent de réduire son niveau d'activité. Cette hypothèse permettrait d'expliquer le résultat observé en évitement passif chez la caille (Richard et al. 2000), mais elle ne permet pas d'expliquer l'effet positif de la peur sur l'évitement actif, qui est une tâche impliquant

fortement la locomotion et où les individus les moins peureux ont été les moins performants (Budaev et Zhuikov 1998; Lansade et Simon 2010). Une autre explication pourrait provenir de l'état de stress. Il est possible que les individus peureux soient avantagés lorsque la tâche à apprendre est elle-même source de stress (stress intrinsèque), c'est-à-dire lorsqu'elle fait intervenir des stimulations aversives par exemple, comme dans le cas des tâches d'évitement passif et actif. Dans ces cas-là, les individus les plus peureux seraient les plus motivés à éviter les évènements négatifs et donc les plus rapides à apprendre. Il est également possible qu'un stress intrinsèque focalise l'attention des individus peureux sur la tâche et rendent ces individus moins sensibles aux stimulations extérieures.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous faisons l'hypothèse que l'état de stress des individus pourrait être un modulateur des relations tempérament / performances d'apprentissage et de mémoire. Cet aspect sera développé dans une prochaine partie du manuscrit (voir paragraphe *D.4 : Stress, tempérament et performances cognitive.*).

(2) *Influence d'autres traits*

Les relations entre les autres dimensions de tempérament et les performances d'apprentissage ont été moins étudiées. En ce qui concerne les traits de sociabilité, Sih et Del Giudice (2012) font l'hypothèse que les animaux les plus sociables devraient être les plus performants lors de tâche impliquant une composante sociale, comme une tâche de coopération ou une tâche d'apprentissage social par observation d'un congénère. A notre connaissance, il n'y a pas d'étude ayant directement testé et confirmé cette hypothèse avec des traits de tempérament reliés à la sociabilité. Toutefois, Seed et ses collaborateurs (2008) ont montré que plus le niveau de tolérance sociale au sein d'une dyade de corbeaux freux était élevé, plus les animaux de la dyade étaient performants ensemble, lors d'une tâche instrumentale de coopération. Ce résultat a également été observé chez les chimpanzés (Melis et al. 2006; Hare et al. 2007). Le niveau de tolérance étant dépendant de la configuration de chaque dyade et non des individus eux-mêmes, on ne peut pas parler ici de trait de tempérament, mais ce résultat va bien dans le sens qu'une plus grande sociabilité serait reliée à de meilleures performances d'apprentissage dans une tâche sociale.

La dimension d'activité peut également être reliée à des performances d'apprentissage. Chez la souris et le cheval, les individus au tempérament le plus actifs sont les plus performants dans des tâches spatiales et d'évitement actifs (Teskey et al. 1998; Lansade et Simon 2010).

Dans les deux cas, l'effet positif de l'activité peut s'expliquer par le fait que la réponse attendue dans chacune de ces tâches nécessite une action locomotrice. Par processus d'essais-erreurs, les individus au tempérament actifs ont une plus grande probabilité d'émettre la réponse attendue.

b) L'influence du tempérament sur la mémoire à court-terme et à long-terme

(1) Mémoire à court-terme

Les liens entre mémoire de travail et tempérament sont peu connus chez l'animal. Une étude menée chez la souris a montré que les performances de mémoire de travail spatiale étaient supérieures chez des individus provenant d'une souche anxieuse par rapport aux individus provenant d'une souche moins anxieuse (Brinks et al. 2007). Ce résultat suggère un effet positif de la peur sur les performances de mémoire de travail qui mérite d'être étudié davantage. Dans les autres études, bien que les liens avec le tempérament n'aient pas été recherchés, les auteurs observent souvent une forte variabilité interindividuelle dans les performances de mémoire de travail (ex. cheval : Murphy 2009; âne : Baragli et al. 2011).

(2) Mémoire à long-terme

Très peu d'études ont été menées sur ces aspects des performances cognitives et du tempérament. Concernant le rappel à long-terme d'apprentissage, une étude menée chez le cheval suggère que les individus les moins peureux seraient plus performants quatre semaines après la première session d'acquisition (LeScolan et al. 1997). A notre connaissance, il n'existe pas d'étude ayant exploré les liens entre tempérament et mémoire à long terme d'apprentissages après de longs intervalles de rétention. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il est difficile d'un point de vue pratique de conduire un suivi longitudinal d'animaux sur plusieurs mois ou années, à plus forte raison sur des effectifs suffisamment importants pour pouvoir tester les liens avec le tempérament.

c) L'influence du tempérament sur la résistance à l'extinction

Concernant la résistance à l'extinction, des études menées sur les rongeurs de laboratoire avec une approche bimodale de comparaison de souches suggèrent que certains traits de tempérament pourraient être reliés à l'extinction. En particulier, il a été montré que les souris et rats au tempérament peureux sont plus résistants à l'extinction, aussi bien dans des tâches de conditionnement de peur ou instrumentaux (Norcross et al. 2008; Servatius et al. 2008; Beck et al. 2011; Jiao et al. 2011; Malkki et al. 2011). Un état de stress ayant pour effet d'augmenter la résistance à l'extinction (voir synthèse de Holmes et Wellman 2009), il est possible que les individus peureux développent une résistance à l'extinction du fait d'un état de stress supérieur par rapport aux individus moins peureux. La dimension de peur pourrait donc être reliée à un manque de flexibilité cognitive. Les relations entre d'autres dimensions de tempérament que la dimension de peur et les performances de mémoire à long terme et d'extinction n'ont, a priori, pas été explorées jusqu'à présent.

Par ailleurs, des études menées chez d'autres espèces que les rongeurs suggèrent que des animaux manifestant des stéréotypies présenteraient une plus grande résistance à l'extinction que des animaux témoins (campagnol des bois : Garner et Mason 2002; perroquet : Garner et al. 2003; ours : Vickery et Mason 2005; cheval : Hemmings et al. 2007). Plus précisément, chez le cheval, Hemmings et ses collaborateurs (2007) montrent que les animaux présentant une stéréotypie orale (stéréotypie caractérisée par une dysfonction du ganglion basal où le cheval appuie ses incisives contre un support et inhale de l'air bruyamment dans son œsophage) sont plus résistants lors d'un test d'extinction que des chevaux témoins. De la même manière, Parker et ses collaborateurs (2008) ont montré que le même type de population de chevaux présentent des difficultés à former des relations R-C dans le cadre d'un apprentissage instrumental, ce qui pourrait caractériser une tendance à développer des stratégies de types automatiques plutôt que dirigées vers un but. Cela montre que la résistance d'extinction observée par Hemmings et ses collaborateurs (2007) pourrait être liée à une prédominance de stratégies de type automatique chez les chevaux présentant cette stéréotypie. Enfin, Nagy et ses collaborateurs (2010) ont montré que des chevaux présentant ce type de stéréotypie orale auraient un tempérament de type réactif par rapport aux chevaux témoins. Ce dernier résultat suggère donc que, chez le cheval, le tempérament serait relié à une résistance à l'extinction traduisant une moindre flexibilité cognitive, voire une prédominance de stratégies de type automatique dans le cadre d'apprentissages instrumentaux.

d) Conclusion sur les liens entre tempérament et performances mnésiques

La caractérisation des liens entre le tempérament et les performances cognitives chez l'animal est un champ d'étude qui n'a trouvé son essor que relativement récemment (synthèses : Reale et al. 2007; Carere et Locurto 2011; Sih et Del Giudice 2012). Le tempérament d'un individu pourrait influencer ses performances cognitives de plusieurs manières. Par exemple, le tempérament peut être associé à certaines caractéristiques neurophysiologiques qui influencent également les processus cognitifs (Carere et Locurto 2011). Par exemple, la sensibilité de l'axe HPA (axe Hypothalamique-Pituitaire-Adrénalien) peut être reliée à des différences de personnalité (Carere et al. 2010). Généralement on observe que les individus les plus réactifs et les plus peureux ont tendance à avoir une réponse en glucocorticoïdes plus forte que les autres (Cockrem 2013), alors même que le degré d'élévation en glucocorticoïdes et catécholamines est connu pour déterminer les performances cognitives (Joels et Baram 2009). Le tempérament peut également déterminer la manière dont un individu percevra une tâche cognitive et y répondra, en déterminant sa sensibilité et son attention envers des indices, sa motivation pour obtenir ou éviter un renforcement, ou encore la concordance entre le type de comportement qu'il exprimera spontanément et le comportement recherché dans la tâche. Par exemple, des macaques avec une forte propension à explorer sont plus rapides que les sujets plus inhibés à acquérir une tâche opérante qui requiert de toucher un objet (Coleman et al. 2005).

La majorité des études menées jusqu'à présent sur les liens entre performances cognitives et tempérament portent sur la dimension de peur ou sur des dimensions très proches, et sur la phase d'acquisition des apprentissages. Les résultats contrastés concernant l'influence de la peur sur les performances d'acquisition suggèrent que le stress modulerait ces relations et devrait donc être pris en compte. En intégrant cette variable, il faudra déterminer quels sont les critères relatifs au stress qui seront pertinents à étudier. Les résultats que nous venons de décrire en conditions basales suggèrent que la source de stress (intrinsèque ou non à la tâche) pourrait moduler l'influence du tempérament sur les performances d'apprentissage. Par ailleurs, il semble également important d'étudier en même temps d'autres dimensions de tempérament et d'autres phases ou types de mémoire pour lesquelles les connaissances sont encore moins étendues.

D. Le stress : modulateur des relations entre tempérament et performances d'apprentissage et de mémoire ?

1. Généralités sur le stress

On parle de stress lorsque l'homéostasie d'un organisme est mise en péril ou est menacée de l'être par un danger réel ou non. Les facteurs à l'origine du stress sont appelées *facteurs de stress*, ou « *stressors* » en anglais. Ils peuvent provenir de l'environnement physique ou social de l'organisme. La réponse au stress de l'organisme s'accompagne d'une série de réactions aux niveaux physiologique, neurologique et comportemental (Abbott et al. 2003). Cette réponse au stress permet à l'individu de s'adapter rapidement à cette situation de déséquilibre, en favorisant par exemple la sécrétion de glucose hépatique à destination des muscles squelettiques et du cerveau, lui permettant de se préparer à une éventuelle réponse comportementale comme une fuite ou une défense. Le degré d'incontrôlabilité et d'imprévisibilité du stress ont un impact sur l'intensité de l'état de stress. Moins l'individu a de contrôle sur la situation de stress et moins il dispose de moyens de prévoir cette situation, et donc de l'anticiper, ainsi plus son état de stress sera intense (Wiepkema et Koolhaas 1993; Greiveldinger et al. 2009; Destrez et al. 2013). La réponse au stress de l'organisme a un « coût » physiologique et cognitif qui s'accompagne par exemple d'un ralentissement de la digestion, de la croissance, un affaiblissement des fonctions immunitaires et reproductrices (Arnsten 1998; Abbott et al. 2003). Les répercussions au niveau cognitif de la réponse au stress seront détaillées dans le paragraphe D. 2) *Stress et cognition*. A l'exception près d'évènements très intenses de type traumatique ou d'accumulation de plusieurs stress, un stress ponctuel et aigu ne sera pas préjudiciable pour l'animal grâce aux phénomènes de récupération, décrivant le retour à un état physiologique et comportemental basal. En revanche, une exposition répétée et /ou prolongée peut-être néfaste pour un organisme, aussi bien d'un point de vue physiologique, neurologique que comportemental. On parle dans ce cas-là de stress chronique. Dans le cadre de cette thèse et dans la suite du manuscrit, nous nous concentrerons sur des stress aigus.

Chez les animaux domestiques, et notamment chez les animaux de rente, la question du stress est centrale car ces animaux peuvent être soumis à de nombreux facteurs de stress dont l'origine peut être des interactions négatives avec l'Homme (ex. manipulations chez la

génisse : Breuer et al. 2003; chez le porc : Hemsworth et al. 1987), des pratiques d'élevages (ex. sevrage chez le cheval : Moons et al. 2005), l'environnement social (ex. surpopulation, réallottements fréquents) ou des événements particuliers (ex. transport chez le cheval : Ohmura et al. 2012b; Schmidt et al. 2010a; Schmidt et al. 2010b). Un état de stress peut ainsi avoir des répercussions sur la productivité, la reproduction et le bien-être des animaux domestiques (Rushen et al. 1999; Rushen et al. 2001), sur la sécurité des manipulateurs et soigneurs (Hausberger et al. 2008) et ou encore sur leurs performances cognitives.

2. Stress et performances cognitives

Le stress est connu pour être un puissant modulateur des fonctions cognitives (Mendl 1999; Sandi et Pinelo-Nava 2007; Schwabe et al. 2010). Son influence sur les performances cognitives a largement été caractérisée chez les rongeurs de laboratoire à des niveaux très variés, allant du niveau moléculaire au comportement, en passant par exemple par les niveaux endocriniens et centraux. Dans la suite du manuscrit, les principales conclusions que l'on peut tirer des nombreuses études menées sur le sujet au niveau cognitif et comportemental seront présentées. Les exemples seront basés sur des apprentissages instrumentaux, puisqu'ils sont au cœur de cette thèse, mais également sur des conditionnements classiques (conditionnement de peur en particulier) et des apprentissages spatiaux, dans la mesure où ces deux formes d'apprentissages sont les plus largement étudiées dans le cadre de cette thématique et que les données les concernant offrent un cadre d'étude plus large.

a) Effet du stress sur la mémoire à long-terme dans le cadre d'apprentissages

Le stress a un effet complexe sur l'acquisition, la consolidation et le rappel de tâches d'apprentissage qui dépend à la fois des caractéristiques du stress et des tâches. Plusieurs auteurs ont tenté d'identifier parmi ces caractéristiques lesquelles sont les plus déterminantes (synthèses : Mendl 1999; Joëls et al. 2011; Joëls et al. 2006; Sandi et Pinelo-Nava 2007; Cazakoff et al. 2010).

(1) *L'intensité du stress*

Le stress peut être évalué selon un gradient continu d'*intensité* et son intensité peut ainsi être quantifiée ou catégorisée en termes de *faible*, *modérée* (ex. exposition à des éléments nouveaux), *élevée*, ou même *très élevée* (ex. réel danger de mort). Plusieurs modélisations théoriques prédisent les relations entre intensité du stress (du point de vue du facteur de stress ou de l'état de stress de l'individu) et performance cognitive. La représentation théorique la plus classique de cette relation est illustrée par la courbe en « U » inversé de Yerkes et Dodson (Figure 2, 1908). Selon cette courbe théorique, l'augmentation de l'intensité du stress serait associée à une augmentation de la performance cognitive dans un premier temps. Dans ce cas-là, l'état de stress de l'individu peut être considéré comme un état d'éveil supérieur bénéfique pour les performances. Ensuite, au-delà d'une certaine intensité, l'augmentation de l'intensité du stress sera associée à une altération de la performance cognitive.

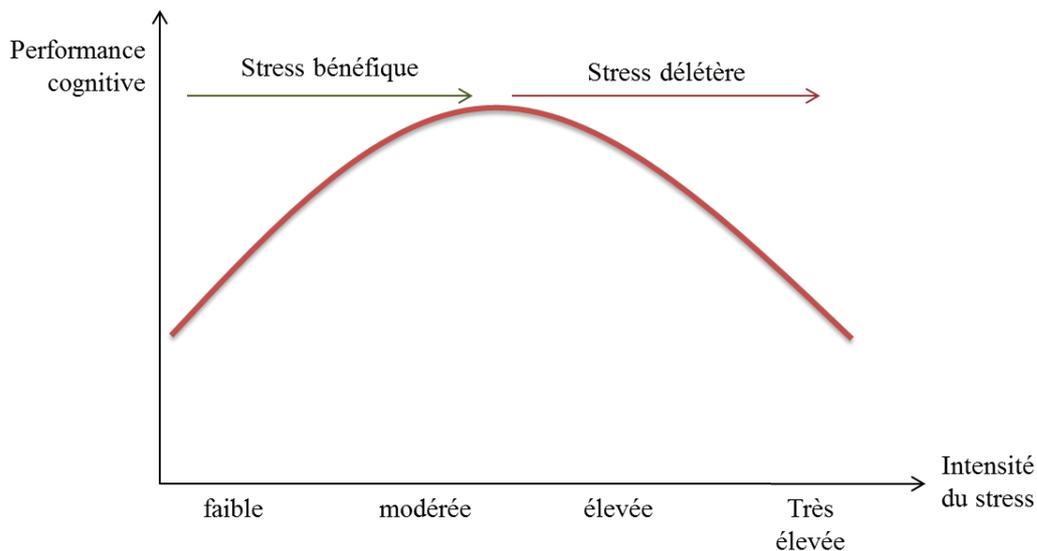


Figure 2 Courbe théorique décrivant les relations entre performance cognitive (apprentissage et mémoire) et intensité du stress associé à ce contexte (d'après Yerkes and Dodson 1908).

Cette courbe théorique peut-être illustrée par des travaux conduits chez le rat dans le cadre d'apprentissages aquatiques spatiaux. En effet, les auteurs ont montré qu'un stress modéré augmente les performances d'apprentissage des animaux (température de l'eau du labyrinthe à 19°C au lieu de 25°C, Akirav et al. 2001), mais qu'un stress plus intense altère les performances (température de l'eau à 12°C, Selden et al. 1990).

La relation en « U » inversée est la plus souvent rencontrée dans les études (Baldi et Bucherelli 2005; Conrad 2005), mais des modèles linéaires-asymptotiques ont également été mis en évidence (Diamond 2005). La relation performance / intensité du stress dépendrait en fait de la complexité de la tâche : une relation linéaire-asymptotique (avec un effet positif du stress) est plutôt attendue pour des tâches « simples » où l'acquisition implique de focaliser son attention sur un stimulus distinct et relativement saillant au sein de l'environnement et/ou reposant sur des formes de mémoires de type implicites (plutôt observée dans le cas de conditionnements pavloviens de peur) (Diamond 2005; Sandi et Pinelo-Nava 2007). Une relation en « U inversé » est plutôt attendue en cas de tâche plus « complexe » sollicitant une attention partagée entre plusieurs stimuli et la mémoire de travail, impliquant une discrimination fine entre plusieurs indices (Diamond 2005) et/ou reposant sur des formes de mémoire de type explicite (plutôt observée dans le cas d'apprentissages dans des labyrinthes) (Sandi et Pinelo-Nava 2007). Nous nous attendons à observer le même type de relation en « U » inversé dans le cadre d'apprentissages instrumentaux, car ils semblent davantage se rapprocher d'une mémoire de type explicite, au moins dans le premiers stade de l'apprentissage, dans la mesure où l'animal apprend une action instrumentale de manière volontaire au regard des conséquences qu'aura cette action.

(2) *La source de stress : intrinsèque ou extrinsèque*

La *source* de stress peut être *intrinsèque* ou *extrinsèque* par rapport à la tâche cognitive. On parle de stress intrinsèque lorsque le stress provient d'un élément relié à la tâche cognitive (ex. utilisation de renforcement négatifs aversifs). On parle de stress extrinsèque lorsque les facteurs de stress sont totalement indépendants de la tâche cognitive. Le facteur de stress extrinsèque doit être physiquement détaché du dispositif d'apprentissage et est idéalement détaché d'un point de vue temporel (ex exposition à un facteur de stress comme un évènement soudain avant ou après la tâche). Cependant, un stress extrinsèque serait théoriquement plus rapidement délétère pour l'acquisition qu'un stress intrinsèque (Sandi et Pinelo-Nava 2007). Par ailleurs, alors qu'un stress extrinsèque aura des effets hétérogènes sur les processus de consolidation (voir paragraphe suivant), un stress intrinsèque aura a priori un effet positif sur les processus de consolidation (Roosendaal 2002).

Ces effets a priori opposés du stress en fonction du lien qui relie les facteurs de stress à la tâche d'apprentissage peuvent s'expliquer par le fait que, d'un point de vue adaptatif, un individu aura intérêt à mémoriser les stimuli qui sont a priori en relation avec l'évènement stressant, afin de pouvoir les éviter par la suite (Arnsten 1998). Cela a pour conséquence une réorientation des processus attentionnels, motivationnels et mnésiques envers ces éléments, au détriment des éléments périphériques. En cas de stress extrinsèque, les processus mis en jeu dans le cadre de la réponse au stress (élément central) et de la réponse à la tâche d'apprentissage (élément périphérique) pourront donc être rapidement mis en compétition à partir d'une certaine intensité de stress (Mendl 1999). En cas de stress intrinsèque, les processus mis en jeu agiraient au contraire plutôt dans la même direction. Le fait que la tâche soit elle-même source de stress permettrait de recentrer les processus attentionnels, motivationnels et/ou cognitifs vers celles-ci et d'améliorer ainsi des performances. Par exemple, un individu aura intérêt à acquérir et mémoriser une réponse instrumentale d'évitement lorsque le renforcement négatif utilisé constitue un stress intrinsèque (ex. chocs électriques en cas de tâche d'évitement actif : Brush et al. 1985; Vicens-Costa et al. 2011; Budaev et Zhuikov 1998). L'ensemble de ces explications doit être néanmoins modérées par le facteur d'intensité du stress que nous avons considéré précédemment : un stress extrinsèque de faible intensité pourra améliorer les performances d'apprentissage et de mémoire en augmentant simplement l'état d'éveil de l'individu, et un stress intrinsèque pourra devenir délétère pour les performances en cas d'intensité si élevée qu'elle induirait une trop forte désorganisation des processus cognitifs de l'individu (ex. apprentissage spatial : Selden et al. 1990). Les relations théoriques entre intensité de stress et performance cognitive qui ont été présentées dans la section précédente sont donc transposables à la fois dans des cas de stress extrinsèques et intrinsèques.

(3) *Moment d'exposition au stress en fonction des processus mnésiques*

L'état de stress de l'organisme peut survenir lorsque les processus d'acquisition (*a* sur **Figure 3**), de consolidation (*b*) ou de rappel (*c*) sont prédominants (voir synthèse de Cazakoff et al. 2010). Un état de stress induit par des stress extrinsèques survenant lorsque les processus d'acquisition prennent place peut avoir pour effet d'améliorer (ex. sujets humains dont le stress consistait à mettre sa main dans l'eau froide : Zoladz et al. 2011) ou d'altérer les performances d'acquisition et/ou de rappel (ex. rats exposés à un prédateur : Diamond et al.

2006; Park et al. 2008). Au contraire, un stress extrinsèque survenant pendant la consolidation a plutôt tendance à ne pas avoir d'effet (ex. chez des souris exposées à une odeur de prédateur : Janitzky et al. 2011a) ou à altérer les performances futures de rappel (ex. rats exposés à un prédateur : Youngblood et al. 1997; Park et al. 2008). Enfin, un stress extrinsèque survenant pendant que les processus de rappel sont prédominants a un effet soit délétère sur les performances de rappel (ex. rongeurs exposés à un prédateur : Diamond et al. 2006), soit stimulant (ex. souris exposées à une odeur de prédateur : Janitzky et al. 2011a). Toutefois, il est important de noter que ces effets dépendent également de l'intensité du stress quelque soit le moment d'exposition. Notamment, selon Baldi and Bucherelli (2005), la relation en « U inversé » peut s'observer aussi bien en cas d'exposition au stress avant acquisition qu'en cas d'exposition après acquisition. Cependant, au regard des exemples que nous venons de citer, il semblerait qu'un stress extrinsèque d'une intensité relativement élevée (exposition à un prédateur) ait plutôt un effet négatif quelque soit le processus de mémoire impliqué, alors qu'un stress extrinsèque d'intensité plus modérée pourrait avoir un effet positif sur l'exposition qui a lieu durant les processus d'acquisition ou de rappel, mais a priori pas si elle a eu lieu durant les processus de consolidation.

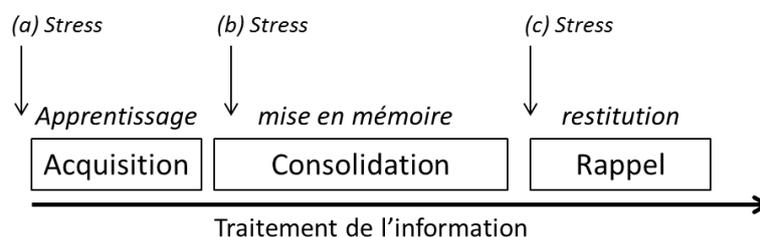


Figure 3. Schématisation des différents moments d'expositions au stress par rapport aux processus d'acquisition, de consolidation ou de récupération de l'information

(d'après Sandi and Pinelo-Nava 2007)

(4) *Différences individuelles en termes de vulnérabilité et de réponse au stress.*

Le tempérament notamment peut avoir une forte influence sur la réponse de l'individu face au stress. L'effet d'un facteur de stress donné sur les performances d'apprentissage variera donc d'un individu à l'autre (Korte et al. 2005; Koolhaas et al. 2010). Cet aspect sera détaillé dans le paragraphe suivant D. 3. *Stress et tempérament*).

b) Effet du stress sur la mémoire de travail

La réponse au stress passe par la facilitation de processus cognitifs rapides et automatiques (Schwabe et al. 2007; Schwabe et Wolf 2011a) afin de permettre à l'organisme de réagir et de s'organiser le plus rapidement possible face à une menace de son équilibre. Cependant, cette réponse a aussi pour conséquence l'altération des processus cognitifs de haut niveau avec un coût énergétique élevé (Arnsten 1998; Dukas 1999; Laughlin et Mendl 2004). La mémoire de travail est un processus qui requiert un haut niveau d'attention, ce qui explique sa sensibilité aux interférences et notamment au stress.

L'effet délétère du stress sur les performances de mémoire de travail a été bien caractérisé chez le rongeur de laboratoire (synthèse : Graybeal et al. 2012). Par exemple, plusieurs études ont montré que l'exposition à des stress altère les performances de mémoire de travail de rats et de souris. Les types de stress étudiés sont variables : exposition à un prédateur (Diamond et al. 1999; Woodson et al. 2003), stress de contention (Trofimiuk et Braszko 2008; Mika et al. 2012) ou encore de privation maternelle ponctuelle (Brenhouse et Andersen 2011). En revanche, on sait peu de choses sur l'effet de facteurs de stress sur les performances de mémoire de travail chez d'autres espèces animales.

c) Effet du stress sur l'aspect « qualitatif » de la performance cognitive

Selon Schwabe et ses collaborateurs, l'effet du stress sur les performances cognitives peut-être évalué d'un point de vue « quantitatif » et « qualitatif » (Schwabe et al. 2010). Par quantitatif, les auteurs entendent les aspects classiques de la mesure de la performance mnésique, comme la vitesse d'apprentissage ou encore le nombre d'essais réussis. Ces aspects ont été présentés dans le cadre des paragraphes précédents. L'aspect qualitatif se réfère quant à lui à la manière dont les individus apprennent (stratégies d'apprentissage) et mémorisent (types de mémoire, Squire 2004), indépendamment de leur « niveau » de performance.

Dans le cadre des apprentissages instrumentaux, on s'intéresse donc aux stratégies d'habitude et dirigées vers un but, comme décrites précédemment. Globalement, des stress extrinsèques, qu'ils soit chroniques ou aigus, semblent avoir pour effet de favoriser et accélérer le changement de stratégies flexibles vers des stratégies d'habitude (Dias-Ferreira et al. 2009; Schwabe et Wolf 2009, 2010b, 2011a; Schwabe et Wolf 2011b). Par exemple, chez l'homme, des participants ont été soumis à un stress physique et psychosocial avant l'acquisition de

deux tâches instrumentales qu'ils devaient réaliser avec deux types de nourriture distincts (un par tâche). Après l'entraînement, un de ces deux aliments était dévalué par une procédure de satiété sensorielle spécifique. Ensuite, les sujets étaient soumis à l'extinction des deux tâches. Les participants stressés avant l'entraînement se sont révélés être insensibles à la dévaluation de la nourriture, contrairement aux participants non-stressés. Cette insensibilité à la dévaluation de la nourriture suggère bien que le stress a favorisé une stratégie de type habitude plutôt que dirigée vers un but. (Schwabe et Wolf 2009). Ce type de résultats se retrouve également chez le rongeur (Schwabe et al. 2008; Schwabe et Wolf 2011a). Bien que toutes les combinaisons possibles de facteurs de stress n'aient pas encore été testées (décrites dans les parties précédentes), on observe déjà que l'effet du stress reste le même qu'il ait lieu avant l'acquisition ou avant les tests d'extinction. De plus, plusieurs études tendent à montrer que le stress, tout comme d'autres facteurs tels que le surentraînement, influencerait l'expression de l'une au l'autre de ces stratégies, mais que les deux types de stratégies seraient toutes deux encodées et peuvent être restaurées selon certaines conditions (Coutureau et Killcross 2003).

Tout comme les stratégies d'habitude, la résistance à l'extinction augmente globalement en cas de stress (que l'exposition ait lieu au moment de l'acquisition ou au moment de l'extinction) et traduit une forme de perte de la flexibilité cognitive (Servatius et al. 2008; Holmes et Wellman 2009; Jiao et al. 2011; Schwabe et Wolf 2011b). Dans certains cas, cette augmentation de la résistance à l'extinction pourrait traduire l'expression de stratégie de type automatique (Schwabe et Wolf 2011b).

3. Sensibilité au Stress et tempérament

La dimension de peur et ses dimensions proches ou équivalentes sont étroitement liées à la manière dont un individu répond à une situation stressante (Korte et al. 2005; Koolhaas et al. 2010). Face à un même facteur de stress, un animal peureux / timide aura en général tendance à présenter une intensité d'état de stress supérieur à un animal moins peureux (ex. Scheid et Noë 2010; synthèses : Cockrem 2007; Cockrem 2013). Par exemple, un stress lié à la nouveauté, comme l'introduction dans un nouvel environnement, devrait induire un état de stress supérieur chez un individu au tempérament réactif à la nouveauté, par rapport à un individu au tempérament moins réactif. De la même manière, des individus au tempérament sociable auront tendance à répondre plus intensément à des facteurs de stress sociaux, comme

une situation d'isolement social ou un stress d'agression sociale. A terme, face à une même situation de stress, des animaux différant par leur tempérament devraient ainsi différer par l'intensité de leur état de stress.

Par ailleurs, sans forcément jouer sur l'intensité de l'état de stress, d'autres dimensions peuvent aussi déterminer la réponse comportementale au stress. Un animal au tempérament actif par exemple pourrait répondre à un stress par une augmentation de son activité locomotrice. De la même manière, des cailles japonaises provenant d'une lignée dite « émotive » ont une réaction plutôt passive face à un stress de contention, alors que celles provenant de lignée « peu émotive » répondent plutôt en se débattant (Hazard et al. 2008).

4. Stress, tempérament et performances cognitives

Un même facteur de stress pouvant induire deux réponses de stress différents entre deux individus présentant des tempéraments différents, on peut à nouveau considérer une relation théorique performance cognitive / intensité du stress, comme la courbe en « U » inversé, mais cette fois en plaçant sur le graphique deux courbes, une par tempérament (A ou B, **Figure 4**). Ainsi, pour un même facteur de stress (ex. introduction dans un même environnement nouveau), des individus aux tempéraments différents différeraient en termes de performance cognitive du fait de différences d'état de stress.

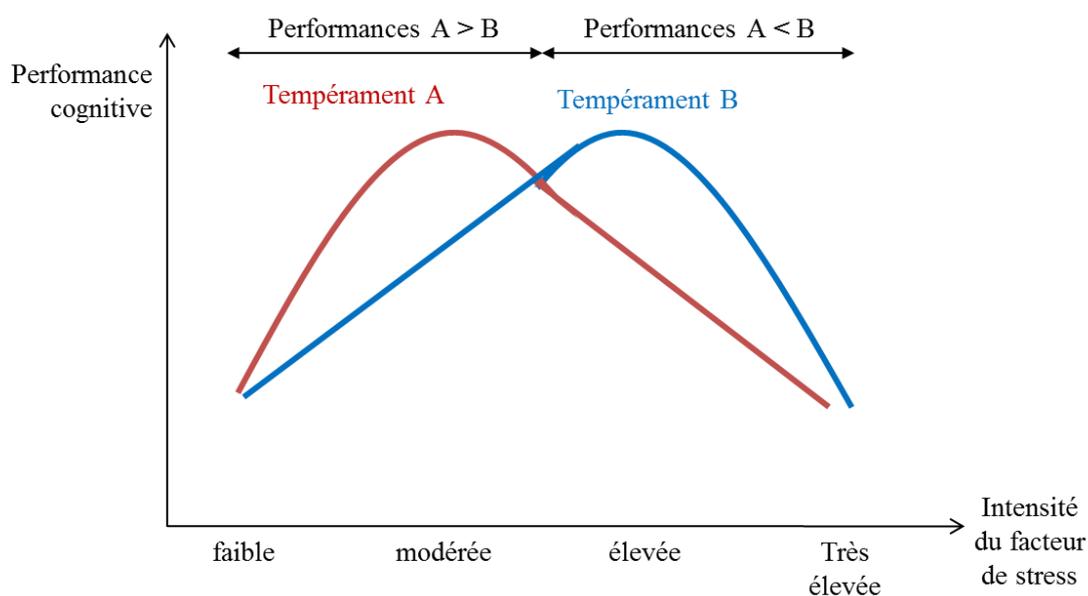


Figure 4. Courbe théorique décrivant les relations entre performance cognitive (apprentissage et mémoire) et intensité du stress associé à ce contexte pour un individu au tempérament A et un individu au tempérament B. Ainsi, une exposition à un même facteur de stress aura des impacts différents selon le tempérament des individus car leurs états de stress peuvent différer en fonction de leur tempérament.

Bien-entendu, cette modélisation reste théorique car, comme nous l'avons vu précédemment, l'influence du stress dépend de nombreuses caractéristiques propres aux facteurs de stress eux-mêmes et à la tâche. Par exemple, en cas de stress intrinsèque, généralement bénéfique plus rapidement et plus durablement pour les performances cognitives que les stress extrinsèques (Sandi et Pinelo-Nava 2007), on peut imaginer les mêmes courbes, décalées vers la gauche et plus aplaties. En cas de conditionnement classique où une relation performance cognitive / intensité du stress plutôt linéaire est décrite, la pente pourrait dépendre du tempérament de l'individu.

Ce type de modélisation pourrait expliquer les variations de résultats observées d'une étude à l'autre sur l'effet du tempérament sur les performances cognitives, en particulier en ce qui concerne la dimension de peur. Cependant, une telle modélisation des relations entre stress, tempérament et performances cognitives n'a pas encore été établie. Les études intégrant ces

trois facteurs sont rares, mais on observe dans la plupart d'entre elles ce rôle modulateur du stress.

Par exemple, dans une étude menée chez le rat, Jiao et ses collaborateurs (2011) ont comparé les performances d'acquisition et d'extinction d'une tâche d'évitement actif (apprentissage instrumental) chez des animaux provenant de deux souches différentes de par leur l'anxiété. Ils ont testé leurs performances dans deux situations plus ou moins stressantes (deux intensités de choc électrique différentes). Les rats au tempérament anxieux étaient les plus rapides à acquérir et les plus longs à éteindre la tâche que les rats au tempérament moins anxieux, et ceci indépendamment de l'intensité du choc électrique. De plus, le stress a eu pour effet d'augmenter la résistance à l'extinction, ce qui est conforme à ce qui est décrit dans la littérature (Holmes et Wellman 2009), mais cela a été observé uniquement chez les rats provenant de la souche au tempérament anxieux. Cette étude montre bien que des différences de tempérament peuvent induire des différences de sensibilité au stress d'un point de vue cognitif.

Une autre étude menée récemment chez le cheval, montre que lors d'une tâche instrumentale, une corrélation négative entre la dimension de peur et la performance d'apprentissage n'est observée que lorsque les individus sont testés dans un contexte de stress (environnement nouveau) (Christensen et al. 2012). Une autre étude menée elle aussi chez le cheval montre que les animaux au tempérament peureux et peu sensibles tactilement sont les moins performants dans une tâche instrumentale peu stressante, basée sur des récompenses alimentaires, et que les individus peureux et actifs sont les plus performants dans une tâche d'évitement actif caractérisée par l'utilisation d'un renforcement effrayant (Lansade et Simon 2010). Cette dernière étude peut illustrer le rôle modulateur du stress lorsque celui-ci est intrinsèque. Cependant, les tâches employées ne différant pas uniquement que par le type de renforcement employé, il est également possible que d'autres facteurs puissent expliquer ces différences de relations entre tempérament et performance d'apprentissage.

Pour conclure, les études citées ci-dessous suggèrent bien que le stress pourrait être un facteur clé dans la compréhension des liens entre tempérament et performances d'apprentissage et de mémoire. Cependant, les études sont encore trop peu nombreuses pour établir des modèles et des prédictions. De plus, ici encore, la majorité de ces études portent exclusivement sur la dimension de peur. Pour aller plus loin, des études doivent être conduites, pour explorer notamment les caractéristiques du stress qui seraient déterminantes (ex. stress intrinsèque vs.

extrinsèque) et en élargissant l'étude du tempérament à d'autres dimensions que celle de la peur.

E. Le modèle équin

1. Pourquoi ce choix du modèle équin ?

Ce travail de thèse portant sur l'étude des relations entre tempérament et performances cognitives en fonction du stress a été mené chez le cheval pour différentes raisons. Tout d'abord, le tempérament du cheval a été largement étudié par rapport à de nombreuses espèces, entre autres grâce à un modèle basé sur cinq dimensions qui a été mis en évidence au cours de ces dix dernières années (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c). Cela nous a permis de partir d'une solide base de connaissances théoriques et pratiques sur le tempérament de cette espèce. Ensuite, d'un point de vue fondamental, l'exploration de ces questions chez le cheval présente une pertinence biologique puisqu'aussi bien en conditions naturelles, semi-naturelles que domestiques, les animaux de cette espèce sont soumis régulièrement à de nombreux défis cognitifs et à diverses formes de stress. De plus, le cheval a la particularité d'être à la fois animal de travail/loisir, animal de compagnie et animal de rente. A ce titre, les applications des études sur le comportement équin sont nombreuses. D'une part, le tempérament est l'un des premiers critères de sélection des chevaux par les acheteurs (enquête australienne : Buckley et al. 2004; enquête française : Heydemann et Grosbois 2006; enquête irlandaise : Hennessy et al. 2008). Il y a donc une forte demande du public en ce qui concerne les connaissances sur le tempérament équin et ses implications dans d'autres domaines tel que la cognition. Le grand public est également avide de connaissances sur l'apprentissage et la mémoire chez le cheval, aussi bien pour disposer d'outils pratiques dans le travail avec leurs chevaux, que dans une perspective de bien-être animal. A terme, une caractérisation assez fine des liens entre tempérament, stress et performances d'apprentissage et de mémoire chez cette espèce permettrait à la fois la sélection des chevaux en fonction de leur utilisation future et la personnalisation des techniques d'entraînement en fonction du tempérament.

2. Etat des lieux des connaissances chez le cheval

a) Présentation générale du cheval

Le cheval *Equus caballus* est un grand ongulé herbivore appartenant à la famille des équidés. Le cheval est une proie dont la principale réponse anti-prédatrice est la fuite. La vie en groupe est, entre autres, une stratégie anti-prédatrice efficace et caractéristique de bon nombre d'animaux de proie (Hamilton 1971). Le cheval ne fait pas exception à la règle et est un animal social. En conditions naturelles et semi-naturelles, il vit au sein de groupes stables une grande partie de sa vie. La structure sociale principale chez le cheval est le groupe familial, composé généralement d'un étalon reproducteur, de 1 à 3 juments et de leurs poulains. Les jeunes, après dispersion, forment généralement des groupes de jeunes mâles et femelles non reproducteurs. Les mâles peuvent également rejoindre des groupes de mâles « célibataires » multi-âges et les femelles directement un nouveau groupe familial (Waring 2003). L'organisation sociale des chevaux au sein des groupes est basée à la fois sur l'établissement d'une hiérarchie de dominance et sur l'établissement de liens affiliatifs durables entre certains individus.

Le cheval est une espèce qui aurait été domestiquée entre 2500 et 5000 ans auparavant (Clutton-Brock 1981). Il s'agit de l'espèce domestiquée la plus récemment parmi les cinq grandes espèces domestiques, ce qui en fait probablement l'espèce domestique sur laquelle les manipulations par l'homme et la sélection artificielle a été le moins marquée (Jansen et al. 2002). De la même manière que les chèvres, et contrairement aux chiens par exemple, le cheval n'a pas été maintenu dans une grande proximité avec l'Homme (Krueger et al. 2011).

Actuellement, le cheval est à la fois animal de rente, élevé pour sa viande, animal de travail, élevé pour la pratique de l'Equitation, et animal de compagnie. La relation avec l'Homme est une composante importante dans la vie du cheval domestique (synthèse : Hausberger et al. 2008). La façon dont certains chevaux sont élevés et maintenus sont sujets à controverses, car certaines conditions de vie sont très éloignées du mode de vie en conditions naturelles ou semi-naturelles : isolement social, généralement dans un espace restreint, nombre et durée de sortie limités et alimentation concentrée. Un certain nombre d'auteurs soutiennent que ce type d'environnement de vie appauvrie peut-être à l'origine d'une altération du bien-être et des capacités cognitives des chevaux, ainsi que de l'émergence de comportements dangereux pour

l'Homme (Sondergaard et Ladewig 2004; Visser et al. 2008; Minero et Canali 2009; Nagy et al. 2010; Lesimple et al. 2011b; Hartmann et al. 2012).

b) L'Apprentissage et la Mémoire chez le cheval

(1) L'Apprentissage

Plusieurs articles de synthèse portant sur la cognition équine ont été publiés au cours de ces dernières années (Nicol 2002; Murphy et Arkins 2007). Les chevaux ont par exemple été testés lors d'acquisition de tâches spatiales (Marinier et Alexander 1994), de tâches complexes (Hanggi 1999), ou encore de tâches de discrimination (Smith et Goldman 1999). Cependant, la tâche la plus couramment étudiée chez cette espèce reste l'apprentissage instrumental (Wolff et Hausberger 1996; LeScolan et al. 1997; Williams et al. 2004; Hausberger et al. 2007; Parker et al. 2008; Lansade et Simon 2010), probablement du fait qu'il soit également largement utilisé sur le terrain (Murphy et Arkins 2007). Parmi ces études, plusieurs auteurs se sont penchés sur la question de l'utilisation des renforcements positifs et négatifs (Warren-Smith et McGreevy 2007; Heleski et al. 2008; Sankey et al. 2010a; Sankey et al. 2010b; Hendriksen et al. 2011) ainsi que sur l'utilisation du renforcement secondaire (Williams et al. 2004; McCall et Burgin 2002), partant du constat que, pendant longtemps, les études scientifiques chez le cheval se focalisaient sur des tâches avec renforcements positifs, alors que dans la pratique l'utilisation de renforcement négatifs est prédominante.

(2) La mémoire de travail

La mémoire de travail chez le cheval a été mesurée grâce au paradigme de test de choix entre deux bacs ou seaux avec le délai présenté précédemment. Étonnement, les résultats sont très variables d'une étude à l'autre. McLean (2004), tout d'abord, a testé dans son dispositif des délais de 0s et de 10s. Il a observé que les chevaux étaient performants à 0s mais pas à 10s et en a conclu que le cheval était pour ainsi dire dépourvu de capacité de mémoire de travail. Ensuite, Murphy (2009) a répété le même type d'expérience, mais cette fois en utilisant des délais augmentant progressivement de 0 à 12s. A 12s, les chevaux étaient encore au-dessus du seuil de la chance, ce qui semblait contredire l'étude de McLean (2004). Plus récemment, une

étude d'Hanggi (2010) est venue appuyer les résultats de Murphy. Dans son étude, Hanggi a testé 4 chevaux, dont 2 testés avec succès jusqu'à des délais de 20 à 30 s. Ainsi certains chevaux seraient performants au-delà des 12 s, mais ces délais supérieurs restent à tester avec un nombre important de chevaux. Selon Hanggi (2010), le succès des chevaux de son étude et de celle de Murphy (2009) pourrait être du au fait que la distance à parcourir dans l'étude de McLean (2004) était la plus longue à parcourir, augmentant le délai de rétention avant que le cheval ne puisse accéder à la récompense, et le risque de démotivation de l'animal. Enfin, les tests de McLean (2004) étaient réalisés en milieu ouvert, contrairement aux tests de Murphy (2009) dont l'enceinte de test a été conçue en « Y ». L'environnement extérieur a donc pu perturber l'attention des chevaux vers la tâche, ce qui est cohérent avec le fait que la mémoire de travail est fortement dépendante des processus attentionnels et est sensible aux interférences. La mémoire de travail est une mémoire intéressante à étudier car elle est nécessaire à l'établissement des nombreuses formes d'apprentissages, y compris d'apprentissage instrumental. Sur le terrain, une bonne connaissance des limites de mémoire de travail des chevaux permettraient de ne pas soumettre les animaux à des demandes trop exigeantes en terme de mémoire de travail et qui place l'animal dans une situation d'inconfort, voire de mal-être (Murphy et Arkins 2007)

(3) *La mémoire à long-terme*

Les capacités de mémoire à long-terme de chevaux ont été explorées à travers quelques études. Ainsi, il a été montré que les chevaux peuvent se rappeler d'une tâche spatiale après 1 semaine (Marinier et Alexander 1994), d'une tâche instrumentale (ouvrir une boîte pour accéder à de l'aliment) et d'une tâche spatiale après un délai de 4 semaines (LeScolan et al. 1997; Wolff et Hausberger 1996) et d'une autre tâche instrumentale (rester immobile pour obtenir de l'aliment) après 6 à 8 mois (Sankey et al. 2010b). Une étude menée sur trois chevaux suggère également que les chevaux pourraient se rappeler de tâches complexes (apprentissage de concepts) 7 ans après les avoir appris (Hanggi et Ingersoll 2009).

(4) *L'extinction*

Les aspects relatifs à l'extinction et aux stratégies instrumentales ont jusqu'à présent été très peu étudiés chez le cheval. Seules les études de Hemmings et collaborateurs (2007) et de

Parker et collaborateurs (2008) ont montré que les chevaux présentant des stéréotypies expriment une forme de résistance à l'extinction et une difficulté à établir des liens réponse - conséquence lors d'une tâche instrumentale.

c) **Le tempérament chez le cheval**

Du fait de son double statut d'animal de compagnie et de rente, le tempérament du cheval a été plutôt bien documenté jusqu'à présent (Von Borstel 2013). La méthode d'évaluation par le biais de questionnaires a également été mise en place chez cet animal, à partir de questionnaires qu'on remettait, par exemple, au soigneur habituel. Ainsi, Morris et collaborateurs(2002b), Momozawa et collaborateurs (2003) et ou encore Lloyd (2007) ont étudié par exemple des traits de tempérament comme le caractère « amical », « joueur » ou encore « sociable » du cheval à partir de synthèses de questionnaires (pour d'autres exemples de traits mesurés à l'aide de questionnaires, voir **tableau 2**). Des auteurs ont également combiné cette méthode avec des observations comportementales des animaux lors de tests (LeScolan et al. 1997; Momozawa et al. 2003). LeScolan et collaborateurs (1997), par exemple, a observé une corrélation significative entre le temps requis pour traverser une surface inconnue (test du pont) et les scores de « peur » en main et monté, attribués par les cavaliers.

Très récemment, Ijichi et ses collaborateurs (2013) ont proposé une étude conduite sur 146 chevaux et portant sur la recherche de liens entre des dimensions mesurées à l'aide de questionnaires (dont les dimensions sont inspirées du modèle « big-five » développé chez l'Homme) et des tests comportementaux. Ainsi, ils ont mesuré les dimensions d'agréabilité, de névrosisme, d'extraversion et de grégarité vers l'homme et vers les congénères à l'aide de questionnaires, et ont testé les chevaux grâce à trois tests : le test du pont (le cheval en main doit traverser une surface inconnue), un test de réactivité (ouverture soudaine d'un parapluie à 1m du cheval) suivi d'un test de récupération (où le parapluie reste présent) et un test d'objet nouveau. Les résultats ont finalement montré que certains traits, « extraversion » et « névrosisme », évalués par un questionnaire, concordaient avec les observations comportementales faites lors de test. Ce type de validation à grande échelle peut donner des outils intéressants pour évaluer le tempérament dans des études de type épidémiologique par exemple.

Cependant, afin de s'affranchir du risque de subjectivité dans les réponses aux questionnaires, certains auteurs se concentrent exclusivement sur l'évaluation du tempérament à partir de l'observation de l'animal lors de tests comportementaux (Wolff et al. 1997; Lansade et Simon 2010; Christensen et al. 2012). Comme chez les autres espèces, les tests les plus employés chez le cheval sont basés sur la réactivité à la nouveauté, comme le test d'open-field et de l'objet inconnu. Bien qu'un grand nombre de traits de tempérament ait été testé de manière isolé chez le cheval, il existe un manque de modèle de tempérament complet reposant sur des observations objectives du comportement.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons décidé de caractériser le tempérament des chevaux à partir du modèle développé par Lansade et ses collaborateurs au cours de ces dix dernières années. Ce modèle est composé de cinq dimensions indépendantes de tempérament qui ont été prouvées comme étant stables au cours du temps et à travers les situations: la peur (Lansade et al. 2008a), au sein de laquelle on trouve les traits de réactivité à la nouveauté et de réactivité à la soudaineté, la grégarité (Lansade et al. 2008b), la réactivité à l'Homme (Lansade et Bouissou 2008), l'activité locomotrice et la sensibilité sensorielle (tactile et auditive) (Lansade et al. 2008c). Une série de tests comportementaux, dont la validité et la répétabilité ont été démontrées, permettent d'évaluer ces cinq dimensions (Lansade 2005). Les avantages de ce modèle est qu'il est mesurable par le biais de tests comportementaux, ce qui est cohérent avec notre démarche globale qui est de nature expérimentale (ex. tâches d'apprentissage). De plus, une évaluation du tempérament par le biais de questionnaires n'aurait pas été adaptée dans ce cadre de ce travail de thèse car nos études ont été conduites sur un troupeau de poneys expérimentaux, pour lesquels il n'y a pas de soigneur ou de cavalier connaissant chaque animal individuellement pour être en mesure de répondre à un questionnaire. Enfin, ce modèle est basé sur la mesure de variables de tempérament présentant un caractère continu pour la plupart. Cela permettra de procéder à un approche corrélacionnelle ou multifactorielle des liens entre traits de tempérament et variables d'apprentissage et de mémoire.

Tableau 2. Exemples de traits de tempérament mesurés chez le cheval et en fonction de la méthode d'évaluation utilisée (Q : questionnaire, T : tests comportementaux, C : observations comportementales)

Référence	Trait / dimension de tempérament	Méthode d'évaluation
Anderson et al. 1999	20 traits mesurés dont : amical, joueur, nerveux, calme	Q, T
Christensen et al. 2012	Peur	T
Gosling and Bonnenburg 1998	Anxiété	Q
König van Borstel et al. 2011	Activité, réactivité, émotivité	T
Lansade and Simon 2010	Peur, grégarité, activité, réactivité à l'Homme, sensibilité	T
Le Scolan et al. 1997	Peur, grégarité	Q, T
McCall et al. 2006	Réactivité	T
McCann et al. 1988	Réactivité	T
Morris and Gale 2002, Morris et al. 2002b	Dimensions du "Big-five" : Névrosisme, extraversion, ouverture à l'expérience, agréabilité, consciencieux	Q
Seaman et al. 2002	Réactivité	Q, T

d) Le stress chez le cheval

Le stress chez le cheval a été étudié à la fois sous sa forme chronique (Harewood et McGowan 2005; Visser et al. 2009; Nagy et al. 2010) et aiguë (Bachmann et al. 2003; Nagy et al. 2009; Peeters 2011b; Ohmura et al. 2012b). La plupart de ces études portent sur l'étude du stress dans l'environnement de vie du cheval, lors de son transport ou encore lors de compétitions. Le stress a été très peu étudié chez le cheval dans l'objectif de le mettre en relation avec des mesures de tempérament ou de cognition. Cependant, grâce à ces études, on dispose de pistes pour l'évaluation d'un état de stress d'un point de vue comportemental (Young et al. 2012) et/ou physiologique ; activité cardiaque et/ou cortisol (Bergamasco et al. 2010; Munsters et al. 2012; Schmidt et al. 2010a; Schmidt et al. 2010b; Peeters et al. 2011; Ohmura et al. 2012b; Ohmura et al. 2012a).

Parmi les indicateurs comportementaux et posturaux de stress les plus couramment utilisés chez le cheval, on retrouve les postures vigilances, qui correspondent aux comportements d'alerte ayant pour fonction de scanner l'environnement, et les soufflements, où l'animal expulse bruyamment de l'air par ses naseaux (Viérin et al. 1998; Heleski et al. 2002; McDonnell 2003a). D'autres indicateurs, tels que les vocalisations ou l'activité locomotrice sont également utilisés, mais peuvent être plus spécifiques de certaines situations (ex. isolement social) ou de certains individus (ex. cheval au tempérament actif). La position des oreilles peut également être un indicateur d'inconfort que l'on peut observer notamment en cas de stress (Fureix et al. 2009). Des indicateurs physiologiques sont également utilisés pour évaluer le stress chez le cheval. Par exemple, à partir d'un enregistrement du rythme cardiaque, il est possible de déterminer la fréquence et la variabilité du rythme cardiaque qui permettent d'évaluer la balance entre les systèmes sympathique et parasympathique, la prédominance de l'activité sympathique pouvant traduire un état de stress (synthèse chez les animaux de ferme, dont le cheval : von Borell et al. 2007). Enfin, comme chez de nombreuses espèces, la concentration en glucocorticoïdes (cortisol dans le cas du cheval), salivaire ou plasmatique, est utilisée comme marqueur d'un état de stress physiologique. La validation de la méthode d'évaluation par voie salivaire permet de mesurer ce paramètre de manière non invasive (Peeters 2011b; Peeters et al. 2011). Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons enregistré à plusieurs reprises plusieurs de ces paramètres afin de valider l'effet des différents épisodes de stress sur les animaux.

e) **Tempérament, stress et performances d'apprentissage et de mémoire chez le cheval**

(1) *Tempérament et apprentissage*

Quelques études chez le cheval ont cherché à caractériser les liens entre un ou plusieurs traits de tempérament et les performances d'apprentissage et de mémoire (Visser et al. 2003; LeScolan et al. 1997; Lansade et Simon 2010). Comme chez les autres espèces, la dimension de peur / émotivité est la plus étudiée, mais sa relation avec les performances ne va pas dans le même sens d'une étude à l'autre. Par exemple, des hauts niveaux de peur ont été montrés comme étant délétères pour les performances d'apprentissage pour la plupart des tâches de discrimination (Fiske et Potter 1979) (Heird et al. 1986a) et instrumentales (LeScolan et al. 1997; Lansade et Simon 2010), sauf pour la tâche d'évitement actif (Lansade et Simon 2010). Ces résultats sont cohérents avec ceux que l'on décrit précédemment dans d'autres espèces et suggèrent aussi qu'un autre facteur, tel que le niveau de stress intrinsèque, pourrait intervenir dans cette relation entre tempérament et performances d'apprentissage et de mémoire

Concernant les autres dimensions, l'étude de Lansade and Simon (2010) a montré que les individus sensibles d'un point de vue tactile sont avantagés lors d'une tâche instrumentale où l'animal doit reculer à partir d'une commande vocale et tactile afin d'obtenir de l'aliment. Une plus grande sensibilité vis-à-vis de cette stimulation tactile et une attention portée vers la commande pourraient expliquer ce résultat. Par ailleurs, l'activité locomotrice a également eu un effet positif du à la tâche d'évitement actif où l'animal doit aller dans un compartiment adjacent afin d'éviter l'émission d'un jet d'air lorsqu'un son retentissait La propension à se déplacer des chevaux au tempérament actif leur a sans doute conférer un avantage dans cette tâche hautement locomotrice. Par processus d'essais-erreurs, ces chevaux ont pu avoir une plus grande probabilité de fournir la réponse désirée que les chevaux au tempérament moins actif.

(2) *Stress, apprentissage et tempérament*

Comme énoncé précédemment, la plupart des études portant sur le stress chez le cheval consistait à évaluer l'état des animaux dans leur milieu de vie, ou lors de manipulations ou d'évènements particuliers. Le stress a été très peu étudié chez le cheval dans l'objectif de le mettre en relation avec des mesures de tempérament ou de cognition. Cependant, comme chez

d'autres espèces animales, il est tout à fait probable que la réponse d'un cheval à un stress varie en fonction de son tempérament

En dehors de nos propres travaux, une seule étude a vraiment cherché à caractériser les liens entre stress, apprentissage et tempérament chez le cheval (Christensen et al. 2012). Dans cette étude, seule la dimension de peur a été mesurée. Les chevaux étaient soumis à une tâche instrumentale soit en conditions témoins, soit en conditions stressantes (environnement nouveau). Les auteurs ont alors observé que la peur est négativement corrélée avec la performance d'apprentissage, mais uniquement lorsque la tâche a lieu dans l'environnement nouveau. Aucune relation tempérament - performance n'est observée en l'absence de stress. Ce résultat confirme chez le cheval que le stress pourrait bien être un facteur clé modulant les liens entre tempérament et performances cognitives.

OBJECTIFS GENERAUX DE LA THESE

A. Synthèse de la problématique

Plusieurs facteurs peuvent contribuer à la variabilité interindividuelle des performances d'apprentissage et de mémoire (ex. le sexe, le statut social ou encore l'expérience). Parmi ces facteurs, nous avons choisi de nous intéresser au tempérament. La caractérisation du tempérament permet de mesurer une partie des caractéristiques comportementales, propres à chaque individu, qui présentent une certaine stabilité à travers le temps et les situations. Chez des espèces très variées, plusieurs auteurs ont déjà observé certains liens entre le tempérament et les performances au cours de diverses tâches cognitives (**Figure 5A**). Le tempérament d'un individu pourrait influencer ses performances cognitives de plusieurs manières. Tout d'abord, le tempérament peut être associé à certaines caractéristiques neurophysiologiques qui influencent également les processus cognitifs, comme la sensibilité de l'axe HPA par exemple (Carere et Locurto 2011). Le tempérament peut également influencer la manière dont un individu percevra une tâche cognitive et y répondra, en déterminant sa capacité de détection et son niveau d'attention envers certains indices, sa motivation pour obtenir ou éviter un renforcement, ou encore la concordance entre le type de comportement qu'il exprimera spontanément et le comportement recherché dans la tâche.

Par ailleurs, comme nous l'avons vu, le stress est un puissant modulateur des performances cognitives (**Figure 5B**). L'exposition à des facteurs de stress induit chez un individu un état de stress qui peut influencer ses performances cognitives par un effet direct sur les processus mnésiques et leurs mécanismes neurophysiologiques et/ou par un effet indirect, en agissant sur le niveau d'attention ou de motivation par exemple. Comme nous l'avons vu, ces effets du stress sur les performances cognitives peuvent être positifs, négatifs ou nuls en fonction de certains paramètres, comme l'intensité de l'état de stress, la source du stress par rapport à la tâche cognitive...etc. Une importante variabilité interindividuelle est souvent observée dans le cadre des effets du stress sur les performances : certains individus seraient plus sensibles que d'autres à l'influence du stress et cette variabilité pourrait être reliée au tempérament des individus.

Dans le cadre de cette thèse, nous proposons d'intégrer stress et tempérament, au sein d'une même problématique visant à comprendre la variabilité interindividuelle des performances cognitives. Nous posons l'hypothèse que l'influence du tempérament sur les performances mnésiques pourrait s'expliquer par des différences d'états de stress entre les individus (**Figure 5C**). En effet, une même exposition à des facteurs de stress pourrait induire des états de stress différents entre les individus en fonction du tempérament de chacun et ces différences pourraient être à l'origine de la variabilité des performances cognitives observées au sein d'une population testée dans les mêmes conditions. L'influence du tempérament sur les performances cognitives pourrait alors varier d'une condition à une autre, en fonction des facteurs de stress associés à ces différentes conditions. Nous n'excluons cependant pas que le tempérament puisse également influencer les performances cognitives par le biais d'autres voies que par celle du stress, tels que, comme évoqué précédemment, par des différences de sensibilité aux stimuli ou encore des différences neurophysiologiques elles même reliées aux processus cognitifs.

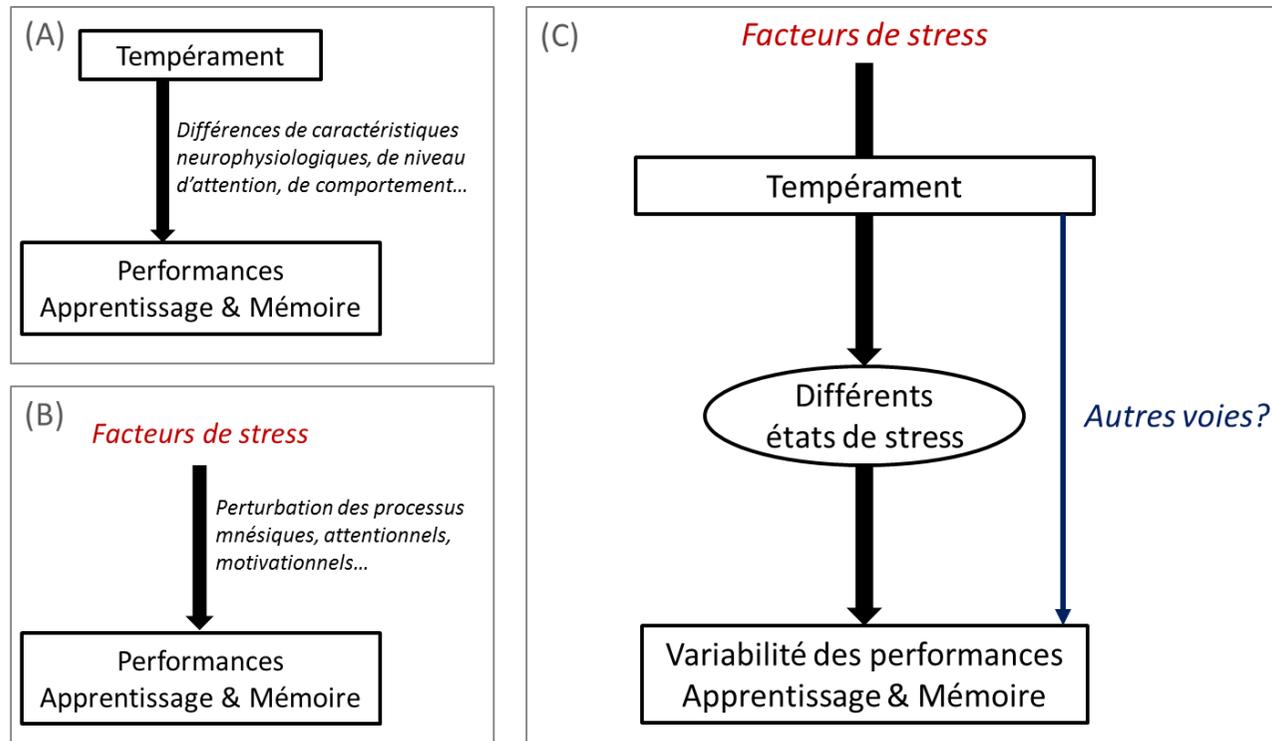


Figure 5. **Schématisation des liens possibles entre tempérament, performances d'apprentissage et de mémoire et stress.**

(A) Dans la littérature, on observe que des différences de tempérament sont reliées à des différences de performances cognitives, mais le sens de ces relations peuvent varier d'une étude à l'autre. (B) Les facteurs de stress peuvent influencer les performances cognitives. Une forte variabilité entre les individus est souvent observée : certains individus semblent plus sensibles à l'influence du stress que d'autres. (C) Dans le cadre de cette thèse, nous proposons d'intégrer ces deux facteurs de variation au sein d'une même problématique : nous posons l'hypothèse que l'influence du tempérament sur les performances pourrait s'expliquer par des différences d'états de stress entre les individus. Nous n'excluons cependant pas que le tempérament puisse également influencer les performances cognitives par le biais d'autres voies que par celle du stress (ex. différences de sensibilité aux stimuli, de profil neurophysiologiques...Etc.).

B. Les questions posées dans le cadre de la thèse

L'objectif de cette thèse était de répondre à deux grandes questions :

(1) Les différences de performances interindividuelles d'apprentissage et de mémoire sont-elles reliées à des différences de tempérament chez le cheval et diffèrent-elles en fonction du type de processus cognitif impliqué ?

(2) L'influence du tempérament sur les performances d'apprentissage et de mémoire varie-t-elle en fonction des facteurs de stress ?

Afin de répondre à la première question, nous avons tout d'abord caractérisé l'influence du tempérament sur les performances observées au cours de différentes tâches cognitives et en l'absence de facteurs de stress extrinsèque. Pour répondre à la deuxième question, nous avons caractérisé l'influence du tempérament en conditions stressantes afin de déterminer si le stress a bien un effet modulateur.

C. Choix expérimentaux

Comme nous l'avons exposé en introduction, l'étude de chacun de ces phénomènes, tempérament, capacités cognitives et stress, représente un champ d'étude très riche. Notre démarche a donc été de cibler un modèle de tempérament chez le cheval, puis de cibler les facteurs qui nous ont semblés être les plus pertinents parmi tous ceux intervenant dans les liens entre stress et performances cognitives et que nous avons détaillés au cours de l'introduction générale. Il s'agit des facteurs liés au stress, tels que l'intensité et la source de stress, et aux tâches cognitives, tel que le type d'apprentissage utilisé et de performance mesurée. L'ensemble de ces facteurs est présenté dans le **tableau 3** et nous y reviendrons par la suite.

L'un des premiers prérequis pour pouvoir évaluer l'effet du tempérament était de mener nos études sur une population relativement homogène en termes de caractéristiques biologiques et expérientielles et élevée dans des conditions contrôlées. Nous nous sommes donc concentrés sur une population de chevaux exclusivement adultes, femelles, de race poney Welsh et élevée dans les mêmes conditions depuis leur naissance. Ces chevaux sont nés et proviennent

tous de l'unité expérimentale de l'INRA de Nouzilly (UEPAO), où les expériences ont également été menées. Il s'agit donc de chevaux « expérimentaux » qui ne sont pas utilisés pour la pratique de l'équitation et dont l'historique peut être retracé depuis la naissance. Nous nous sommes focalisés sur des chevaux adultes car les travaux de Lansade (2005) ont montré que le tempérament ne serait stable et mesurable de façon fiable qu'à partir de 8 mois chez cette espèce. Nous avons conduit nos études sur des femelles de race Welsh afin de nous affranchir d'un potentiel biais lié au sexe ou à la race (ex. effet sexe chez le rongeur : Dalla et Shors 2009; Shors 2004; effet race chez le cheval : Hausberger et al. 2004; Wolff et Hausberger 1996). En effet, il semblerait que les relations entre tempérament et performances cognitives pourraient différer entre mâles et femelles dans certains cas. Notamment, il a été montré que les relations entre trait d'exploration et performance lors de tâches requérant un haut degré de flexibilité sont inversées en fonction du sexe, les individus les plus rapides à explorer un nouvel environnement étant les plus performants chez les mâles, mais les moins performants chez les femelles (mésange à tête noire, Titulaer et al. 2012). En menant nos études sur une population mixte sans faire de distinction mâle / femelle, nous aurions donc pris le risque de masquer certaines relations entre tempérament et performances d'apprentissage. Comme nous le verrons en discussion, le choix de ne cibler qu'un seul type de population de chevaux représente également une des limites de ce travail.

Concernant la manière d'évaluer le tempérament, nous avons choisi de nous baser sur le modèle de tempérament à cinq dimensions développé par Lansade et ses collaborateurs (2008; 2008a, b; 2008c) que nous avons décrit et dont nous avons présenté les avantages précédemment. Ce modèle a été choisi car il s'agit de l'un des modèles les plus exhaustifs chez le cheval parmi ceux mesurables à partir de tests standardisés, et non à partir de questionnaires. La question de la recherche de nouvelles dimensions de tempérament à ajouter à ce modèle s'est posée, mais nous avons finalement décidé de rester focalisés sur les cinq dimensions déjà mises en évidence par ce modèle car la recherche de nouvelles dimensions de tempérament et la caractérisation de tests les mesurant aurait nécessité un gros travail expérimental qui ne nous aurait sans doute pas laissé assez de temps pour explorer également les performances cognitives et l'effet du stress.

Concernant les performances cognitives, nous avons choisi de nous concentrer sur l'acquisition, et le rappel à long-terme d'apprentissages instrumentaux, ainsi que sur l'extinction et la mémoire de travail (voir **tableau 2**). L'apprentissage instrumental a été choisi car il est moins étudié que d'autres formes d'apprentissage classiquement observées dans la littérature « *stress-cognition* » (conditionnements Pavlovien et apprentissages spatiaux) alors qu'il présente un fort intérêt appliqué. En effet, les espèces domestiques y sont très souvent confrontées dans la pratique, notamment dans le cadre de l'éducation et du dressage. Des perspectives appliquées pourront donc découler de ce travail de thèse.

Différentes tâches instrumentales ont été utilisées au fil de nos études. Chacune d'entre elles a été mise au point et choisie en fonction de la question posée dans l'étude, par exemple par rapport à la possibilité de réaliser la tâche à partir de renforcements positifs ou négatifs. Les justifications de ces choix seront présentées dans la partie « méthodes » de chacun des chapitres. Nous nous sommes également intéressés aux performances d'extinction dans le cadre de ces tâches instrumentales car l'extinction permet d'évaluer un aspect de la flexibilité cognitive des individus. Enfin, nous avons également étudié les performances de mémoire de travail car il s'agit d'un type de mémoire qui est largement sollicité et nécessaire à l'acquisition de nombreux apprentissages, notamment instrumentaux.

Plusieurs caractéristiques des facteurs de stress sont à prendre en considération lorsqu'on s'intéresse à l'influence du stress sur les performances cognitives : son intensité, sa durée et fréquence d'exposition (aiguë ou chronique), sa source (extrinsèque ou intrinsèque par rapport à la tâche) et son moment d'exposition par rapport à la tâche cognitive. Nous avons choisi de faire varier la source du stress, en nous intéressant à la fois à des stress extrinsèques et intrinsèques, et son moment d'exposition (avant ou après l'acquisition, afin de cibler les processus d'acquisition ou de consolidation, voir **tableau 3**). Nous avons choisi de maintenir constants l'intensité et le caractère aigu ou chronique de l'exposition au stress en nous focalisant exclusivement sur des stress aigus d'intensité a priori modérée, notamment afin de mimer au mieux ce qui est observé sur le terrain. Pour cela, nous nous sommes inspirés de facteurs de stress auxquels les chevaux domestiques sont souvent confrontés dans la pratique. Les facteurs de stress extrinsèques consistaient donc à soumettre les animaux à des événements et stimuli nouveaux, soudains et combinés à des isolement sociaux de courte durée, qui sont des types de stress « modéré » classiques (Sandi et Pinelo-Nava 2007). Nous nous sommes concentrés sur des expositions ponctuelles et brèves (quelques minutes

maximum). Notre objectif était de cibler l'influence de l'état de stress sur les performances des animaux tout en évitant que la présence de facteurs de stress extrinsèques eux-mêmes vienne perturber l'animal pendant qu'il était soumis à une tâche cognitive. Ainsi, l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques a toujours eu lieu dans des endroits et à des moments différents de ceux où la tâche cognitive se déroulait. Lorsque nous souhaitions induire un état de stress pendant une session de test, l'exposition aux facteurs de stress extrinsèques avait lieu une fois avant la session ou de manière répétée entre les essais au cours de la session. Cette variation est due à un ajustement auquel nous avons procédé au cours de la thèse (voir discussion du chapitre 2). Lorsque nous souhaitions induire un état de stress juste après une session d'acquisition, l'exposition aux facteurs de stress extrinsèques a eu lieu une fois après la session. Les facteurs de stress intrinsèques consistaient en l'utilisation de renforcements négatifs également inspirés de la pratique. Il s'agissait de stimulations essentiellement tactiles dirigées vers les flancs (ex. jet d'air envoyé vers le ventre), modélisant ainsi l'action des jambes du cavalier.

L'évaluation des relations entre tempérament et performances cognitives a été appréhendée par le biais de tests de corrélations entre les variables. L'intérêt de cette approche est qu'elle prend en compte la notion de continuum des variables de tempérament, contrairement aux approches bimodales. Comme nous l'avons vu précédemment, il faut garder à l'esprit que le tempérament n'est pas le seul facteur explicatif des performances d'apprentissage et de mémoire d'un individu. Par conséquent, nous nous attendons à observer des liens assez ténus entre les variables de tempérament et les variables cognitives. Dans cette optique, nous nous sommes également intéressés aux tendances statistiques qui, même si elles ne nous permettent pas de statuer sur la présence ou non de relations, permettent de donner des indications quant à la cohérence des corrélations observées pour une même dimension de tempérament.

Tableau 3. **Principaux facteurs intervenant dans la relation entre stress et performance d'apprentissage et de mémoire sur lesquels le travail de thèse s'est focalisé.** Les facteurs surlignés en vert et écrit en gras correspondent à ceux que nous n'avons pas fait varier. Ainsi nous nous sommes concentrés sur l'étude d'un seul type d'apprentissage (instrumental) et de stress aigus d'intensité a priori modérée. Les facteurs surlignés en jaune correspondent aux facteurs que nous avons fait varier : la source de stress (intrinsèque vs. extrinsèque), la phase de mémoire ciblée par l'état de stress (pendant ou après acquisition, pour les apprentissages, ou pendant les sessions de tests, pour la mémoire de travail), et le type de performance d'apprentissage et de mémoire évaluée (mémoire de travail, acquisition / réacquisition, rappel à long-terme / très long terme et extinction). Les facteurs surlignés en gris correspondent aux facteurs que nous avons écartés. Les indices (^{1,2,3}) correspondent aux numéros des chapitres dans lesquels chaque combinaison de facteurs a été étudiée.

Sortie cognitive		Stress										
		Absence de stress	source			intrinsèque	intensité				durée / fréquence	
			extrinsèque		état de stress après acquisition		Gradient allant de faible à très élevée				aigu	chronique
état de stress pendant acquisition	état de stress après acquisition	Faible	Modérée	Elevée		Très élevée						
Type d'apprentissage	instrumental	X^{1,2,3}	X^{2,3}	X²	X³		X^{2,3}			X^{2,3}		
	spatial											
	classique											
Type de performance mnésique mesurée	Mémoire de travail	X²	X²				X²			X²		
	Acquisition / réacquisition	X^{2,3}	X^{2,3}	X²	X³		X^{2,3}			X^{2,3}		
	à long terme	X²	X²	X²			X²			X²		
	Rappel à très long terme	X¹										
	Extinction	X¹			X¹		X¹			X¹		

D. Plan de la thèse

Chapitre 1 : Relations entre tempérament et performances cognitives en l'absence de stress extrinsèque

Suite à une étude menée avant la thèse portant sur l'acquisition de deux tâches instrumentales (Lansade and Simon 2010), nous avons souhaité ici caractériser les liens entre tempérament et performances de mémoire à très long terme et d'extinction dans le cadre de ces deux différentes tâches instrumentales et en l'absence de stress extrinsèques.

Chapitre 2 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques

Nous nous sommes focalisés sur l'influence de stress extrinsèques. Dans la première étude, nous avons comparé l'influence du tempérament sur les performances de mémoire de travail en l'absence puis en présence de facteurs de stress extrinsèques. Dans la deuxième étude, nous avons comparé les liens entre tempérament et performances d'acquisition et de rappel d'une tâche instrumentale selon trois conditions : (1) exposition à un stress extrinsèque avant l'acquisition (afin que l'état de stress survienne lorsque les processus d'acquisition sont a priori prédominants), (2) exposition à un stress extrinsèque juste après l'acquisition (afin que l'état de stress survienne lorsque les processus de consolidation sont a priori prédominants) et (3) sans exposition particulière à des facteurs de stress.

Chapitre 3 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques et/ou intrinsèques

Dans ce troisième chapitre, nous avons testé à la fois l'effet de stress extrinsèques (état de stress pendant l'acquisition) et l'effet de stress intrinsèques (utilisation de renforcements négatifs) sur les relations entre tempérament et performances d'apprentissage.

CHAPITRE 1 : Relations entre tempérament et performances cognitives en l'absence de stress extrinsèque

A. Objectifs

Nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à la caractérisation des liens entre tempérament et performances cognitives en l'absence de stress extrinsèques. L'objectif général était de caractériser ces liens pour des performances de mémoire à très long-terme, après un délai d'environ 2 ans, et d'extinction. L'étude qui compose ce chapitre fait directement suite à l'étude de Lansade et Simon (2010) qui a permis de caractériser les relations entre tempérament et acquisition de deux différentes tâches instrumentales. Dans l'étude présentée dans ce chapitre, nous avons testé à nouveau une partie des chevaux de cette précédente étude afin de les soumettre aux tests de rappel et d'extinction pour les deux mêmes tâches.

La première tâche instrumentale dite du « reculer » consistait à ce que le cheval apprenne à reculer de deux pas à la suite d'un ordre vocal puis gestuel donné par l'expérimentateur afin d'obtenir une récompense alimentaire (renforcement positif). La deuxième tâche instrumentale d'« évitement actif » consistait à ce que le cheval apprenne à franchir un obstacle afin d'aller dans un des deux compartiments de l'aire de test lorsqu'un signal sonore retentissait afin d'éviter l'émission de jets d'air (renforcements négatifs). Lors de l'acquisition de ces tâches, Lansade et Simon (2010) avaient observé que l'influence du tempérament était spécifique à la tâche. En effet, les chevaux les moins peureux et les plus sensibles apprenaient mieux la tâche du reculer, alors que les chevaux les plus peureux et les plus actifs apprenaient mieux la tâche de l'évitement actif. Ces résultats illustrent une fois de plus les effets opposés que peut avoir la dimension de peur sur les performances à travers diverses tâches cognitives. L'objectif de l'article présenté dans ce chapitre était de tester ces relations dans le cadre de tests de rappel et d'extinction pour ces deux mêmes tâches.

B. Hypothèses

Comme nous l'avons vu en introduction, les relations entre tempérament et performances de mémoire à très long-terme sont très peu connues chez l'animal, sans doute parce qu'il est souvent difficile d'un point de vue pratique de conduire un suivi longitudinal d'animaux sur plusieurs mois ou années et avec des effectifs suffisamment grands pour pouvoir tester les relations avec le tempérament. Dans le cadre de délais de rétention plus courts, l'étude menée chez le cheval de LeScolan et ses collaborateurs (1997) suggère que les individus les moins peureux seraient plus performants 4 semaines après la première session d'acquisition d'une tâche instrumentale basée sur des renforcements positifs. Nous avons donc fait l'hypothèse

que la dimension de peur aurait ici encore une influence significative sur les performances de mémoire, qui pourrait aller dans le sens où les chevaux les moins peureux présenteraient les meilleures performances de rappel.

Concernant les performances d'extinction, plusieurs études menées chez le rongeur de laboratoire suggèrent que les individus provenant de souches au tempérament peureux présentent généralement une résistance à l'extinction plus importante que les individus provenant de souches au tempérament moins peureux (Jiao et al. 2011; Beck et al. 2011; Servatius et al. 2008; Malkki et al. 2011; Norcross et al. 2008). La dimension de peur pourrait donc être associée à une forme de rigidité cognitive qui semblait être intéressante à tester chez le cheval, notamment dans la mesure des liens entre rigidité cognitive et stéréotypies, qui ont été mis en évidence chez cette espèce (Parker et al. 2008; Hemmings et al. 2007).

C. Méthodologie générale

Nous avons testé 26 chevaux parmi les 36 utilisés dans l'étude de Lansade et Simon (2010), une partie des chevaux n'étant plus présente ou non disponible car utilisée dans le cadre de la reproduction (juments suitées) au moment où l'étude a été menée. Après que leur tempérament ait été évalué, ces chevaux ont été soumis à un test de rappel puis à des sessions d'extinction pour les deux tâches instrumentales qu'ils ont acquises 22 mois plus tôt. Dans un premier temps, les performances générales des animaux ont été évaluées. Ensuite, nous avons recherché les corrélations entre les variables de tempérament et les variables cognitives.

Initialement, les tâches du reculer et de l'évitement actif ont été choisies dans l'étude Lansade and Simon (2010) car elles sont très différentes l'une de l'autre et qu'elles constituaient donc une base large pour mener cette première étude visant à explorer les liens entre dimensions de tempérament et performances d'apprentissage instrumental. En effet, ces tâches différaient par exemple par la modalité sensorielle sollicitée par les signaux donnés aux chevaux (visuelle et tactile pour le reculer et auditive pour l'évitement actif), par les renforcements utilisés ou encore par les types de comportement que les individus devaient exprimer comme réponse instrumentale.

D. Article 1

Valenchon, M., Lévy, F., Górecka-Bruzda, A., Calandreau, L. & Lansade, L. *Accepté pour publication*. Characterization of long-term memory, resistance to extinction, and influence of temperament during two instrumental tasks in horses. *Animal Cognition*.

Characterization of long-term memory, resistance to extinction, and influence of temperament during two instrumental tasks in horses

Mathilde Valençon^{1,2,3,4}, Frédéric Lévy^{1,2,3,4}, Aleksandra Górecka-Bruzda⁵, Ludovic Calandreau^{1,2,3,4}, Léa Lansade^{1,2,3,4}

¹INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

²CNRS, UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

³Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France

⁴IFCE, F-37380 Nouzilly, France

⁵Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec, Postępu 1, 05-552 Magdalenka, Poland

ABSTRACT

The present study investigated the influence of temperament on long-term recall and extinction of 2 instrumental tasks in 26 horses. In the first task (Backward Task), horses learned to walk backward, using commands given by an experimenter, in order to obtain a food reward. In the second task (Active Avoidance Task), horses had to cross an obstacle after a bell rang in order to avoid emission of an air puff. Twenty-two months after acquisition, horses exhibited perfect recall performance in both tasks. Accordingly, no influence of temperament on recall performance could be observed for either task. In contrast, in the absence of positive or negative outcomes, the horse's ability to extinguish their response to either task was highly variable. Resistance to extinction was related to some indicators of temperament: the most fearful horses might be the most resistant to extinction in the Backward Task, while the least sensitive horses might be the most resistant to extinction in the Active Avoidance Task. These findings reveal extensive long-term memory abilities in horses and suggest an influence of temperament on learning processes other than acquisition.

Keywords: Personality, Learning, Individuality, Fearfulness, Equid, Cognitive Flexibility

INTRODUCTION

Individual differences in the domain of animal cognition have gained considerable research interest in the past 10 years (Sih et Del Giudice 2012). Differences in temperament or personality may be one of the factors responsible for inducing variations in cognitive performance (reviews: Gosling et John 1999; Reale et al. 2007). However, the influence of temperament has been mostly studied with regard to acquisition processes (e.g. Corvids: Range et al. 2006; Scheid et Noë 2010; Equids: Lansade et Simon 2010; Songbirds: Guillette et al. 2009; Guillette et al. 2011; Amy et al. 2012) and rarely other aspects of cognition, such as long-term memory and extinction.

Long-term memory for learned responses is an adaptive process that avoids the need for repeated acquisition of the same response at different times. This process can be experimentally assessed by submitting an animal to a recall test after a delay period (e.g. Johnson et Davis 1973; Markowitz et al. 1975; Vaughan et Greene 1984; Kastak et Schusterman 2002). Longevity of memory over several years has not been studied extensively due to the difficulties associated with maintaining available subjects over extended periods of time (Burdyn et al. 1984; Hanggi et Ingersoll 2009). However, investigating long-term recall might be of prime interest in the study of individual differences, since long-term recall represents a difficult cognitive challenge that should reflect performance variability among individuals. This variability in performance has been observed when retention intervals of several weeks were tested (e.g. Bogale et al. 2012; LeScolan et al. 1997). For instance, LeScolan et al. (1997) suggested that fearfulness impairs long-term retention of an instrumental task in horses. However, whether other dimensions of temperament are involved and whether an interaction exists between temperament and long-term memory are exhibited in different instrumental tasks remains to be determined.

Extinction of a previously learned response when it no longer leads to the desired outcome is another cognitive process that is essential for adaptive responses to a changing environment (Pearce 2008; Malkki et al. 2011). Several studies suggest that some individuals are more inclined to resist extinction than others. For instance, resistance to extinction of both instrumental and Pavlovian-fear conditioning tasks is related to an anxiety trait in rodents (Jiao et al. 2011; Beck et al. 2011; Servatius et al. 2008; Malkki et al. 2011; Norcross et al. 2008). However, no studies have investigated the influence of other dimensions of temperament on extinction.

This study first investigated the long-term memory performance of horses during two instrumental tasks with recall tests performed 22 months after acquisition. Prior to the current study, long-term memory has been studied on a relatively large sample of horses only with a retention interval of up to a few months (Sankey et al. 2010b). Then, after a reacquisition session, extinction performance for both tasks was investigated. Finally, correlations between five dimensions of temperament (fearfulness, gregariousness, reactivity to humans, level of locomotor activity, and tactile sensitivity) and both long-term memory and extinction performance were explored. These dimensions of temperament have been characterized in horses as independent characteristics that are stable over time and across situations (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c).

MATERIALS AND METHODS

Animals

Twenty-six female horses (Welsh ponies, mean age 6 ± 1 years) from the Institute for Agronomic Research (INRA of Nouzilly, France) were used. Living conditions, experimental sites, and procedures have been described previously (Lansade et Simon 2010). During both temperament and cognitive tests, one non-participating ‘audience’ horse was tethered outside of the test zone in order to be visible by the tested horse and to avoid a social isolation context. The same audience horse was used for all tested horses.

Temperament tests

The first day, temperament tests were conducted in a box (2.7 m \times 8.1 m) and several parameters proven to be stable, reliable indicators for each dimension of temperament were recorded (for details see Lansade et Simon 2010). Briefly, after a habituation phase, during which the horse was free in the box for 360 s, the tests were conducted in the following order:

(1) Passive human test (reactivity to humans): The experimenter, unfamiliar to the horses, entered into the box and stayed motionless for 180 s. The number of contacts (sniffing or nibbling, for descriptions see McDonnell et Poulin 2002; McDonnell 2003b) with the experimenter was recorded.

(2) Tactile sensitivity test (sensory sensitivity): The experimenter successively applied four von Frey filaments (0.008 g, 0.02 g, 1 g, and 300 g, Stoelting, IL USA) perpendicularly to the

base of the horse's wither. The number of times the horse reacted to the filaments, indicated by trembling of the *platysma* muscle, was recorded.

(3) Novel object test (fearfulness): An object, unknown to the horse, was placed in the box for 180 s. The number of contacts (sniffing or nibbling, indicating an absence of fear) and the number of glances (indicating the presence of fear, for a full description see Lansade et al. 2008a) at the novel object were recorded.

(4) Social isolation test (gregariousness): The audience horse was removed from sight and sound of the tested horse and the number of neighs by the tested horse was recorded for 90 s (indicator of a high level of gregariousness).

(5) Novel area test (fearfulness): In order to get access to a familiar bucket containing pellets, the environment was arranged such that the tested horse had to first cross a colourful carpet. The time the tested horse took prior to placing one foot on the carpet and the number of glances at the carpet were recorded (both indicating the presence of fear).

(6) Surprise test (fearfulness): An umbrella was opened in front of the animal 3 s after it started eating from the bucket of pellets. The response was assessed by measuring the flight distance following the opening of the umbrella (indicating the presence of fear).

In order to assess the locomotor activity dimension, the box was virtually divided into 6 areas of equal size. The number of areas crossed during the habituation phase, passive human test, novel object test, and social isolation test were recorded. In addition, to assess fearfulness, the number of blowing behaviours were continuously recorded (indicating the presence of fear, for a description see McDonnell 2003b).

Long-term recall, reacquisition, and extinction tests

All horses had previously acquired instrumental responses in two tasks (Lansade et Simon 2010). The first task (Backward Task) consisted of the horse needing to walk backward, using vocal and tactile commands given by an experimenter, with the goal of obtaining a food reward. The second task (Active Avoidance Task) consisted of the horse needing to cross a wooden bar, after a bell rang, to avoid the emission of an air puff (adapted from Visser et al. 2003). Twenty-two months later, on separate days, horses were submitted to reacquisition and extinction tests using the same conditions, first for the Backward Task and then for the Active Avoidance Task (for details concerning procedures see Lansade et Simon 2010).

Backward Task

Each horse was tested in an area (7 m × 3 m) where it was handled by an experimenter who stood to the left side of the horse, next to the head. The reacquisition session consisted of 8 trials where the experimenter asked the horse to walk backward, with a 20-s rest periods between each trial. For each trial, the experimenter applied different levels of stimulation until the horse walked backward, with a 3-s break between each level:

Level 1: The experimenter gave a vocal command: ‘back’.

Level 2: The experimenter turned around and gave the horse a tactile command by placing his hand on the horse’s breast.

Level 3: The experimenter pushed on the horse’s breast.

The experimenter gave a food reward (~7 g of pellets) and stopped the trial as soon as the horse correctly took 2 steps backward.

The following days, horses were submitted to 3 extinction sessions that were similar to the reacquisition session except that the outcome was omitted (the delivery of a food reward was stopped). During the second and third sessions, stimulations at level 3 were not used, as Level 3 stimulations potentially constitute negative reinforcement.

Active Avoidance Task

Sessions took place in box (5.4 m × 2.7 m) divided into 2 equal parts by a crossbar (0.3 m high). The horse was equipped with an air-pressure system (Master Plus Pro®, Dynavet, Switzerland) attached to a soft elastic belt that could be operated by a remote control to emit a bell ring or a puff of compressed air behind its shoulder. The reacquisition session consisted of 10 consecutive trials, with 90-s rest breaks between each trial. For each trial, different levels of stimulation were applied until the horse crossed the bar, with a 3-s break between each level:

Level 1: The bell rang for 1 s.

Level 2: Ringing of the bell was followed immediately by an air puff.

Levels 3, 4, 5, and 6: Repetitions of Level 2.

Then, horses were submitted to 2 extinction sessions that were similar to the reacquisition session, except that for each trial, horses were only exposed to Level 1 stimulations (*i.e.* only the level without a negative outcome).

In both reacquisition and extinction sessions, *the number of trials where the horse responded* either by walking backward immediately after a command was given (backward task, Levels

1 or 2) or by crossing the bar immediately after the bell rang (active avoidance task, Level 1), was recorded for each session.

Data analyses

Proportions of horses that responded and numbers of trials where horses responded were compared between sessions using McNemar's test and the Wilcoxon signed-rank test for dependent samples, respectively. Correlations between the dimensions of temperament and the number of trials where horses responded during the extinction sessions for each task were examined using Spearman's rank correlation coefficients (r), with the Bonferroni correction (P'). Parameters recorded during reacquisition sessions were not analysed in this way due to a lack of inter-individual variability. The threshold for statistical significance was set at P or $P' \leq 0.05$. NS is used to indicate a lack of statistical significance.

RESULTS

Long-term recall

For both the Backward Task and the Active Avoidance Task, the percentage of horses that responded on the last trial of the last acquisition session did not differ from the percentage of horses that responded on the first trial of the reacquisition session 22 months later (Backward: %_{Acquisition} = 100%, %_{Recall} = 100%, no statistical test possible; Active Avoidance: %_{Acquisition} = 100%, %_{Recall} = 85%, McNemar's test, $Z_{\text{obs}} = 2$, NS)

Reacquisition

The number of trials where horses responded did not differ between the last acquisition session and the reacquisition session for both the Backward Task (**Fig. 1**, Wilcoxon test, $Z = 0$; NS) and the Active Avoidance Task (**Fig. 2**, Wilcoxon test, $Z = -1.16$, NS).

Extinction

For both the Backward and Active Avoidance Tasks, the number of trials where horses responded during the first extinction session was significantly lower than during the reacquisition session (Backward: $Z = -2.459$, $P = 0.02$; Active Avoidance: $Z = -3.271$, $P = 0.001$). In addition, the number of trials where horses responded was lower during the second extinction session than during the first extinction session (**Figs. 1 and 2**; Backward: $Z = -3.343$, $P < 0.001$; Active Avoidance: $Z = -3.271$, $P < 0.001$). For the Backward Task, the

number of trials where horses responded during the third extinction session was lower than during the second extinction session ($Z = 3.551, P < 0.001$).

Influence of temperament on extinction

The number of trials where horses responded during extinction sessions was significantly and positively correlated with the number of glances at the novel area (**Table 1**, $r_s = 0.58; P' = 0.02$). The number of trials where the horse crossed the bar immediately after the bell rang during extinction sessions of the Active Avoidance Task was significantly and negatively correlated with the number of reactions to von Frey filaments ($r_s = -0.57, P' = 0.03$). Other correlations with temperament were not significant.

DISCUSSION

The present study shows that i) horses are able to recall two instrumental tasks with either positive or negative outcomes after 22 months; ii) resistance to extinction may be influenced by specific dimensions of temperament. An indicator of fearfulness was correlated with less extinction resistance in the backward task, while an increase in an indicator of tactile sensitivity was correlated with higher extinction resistance in the Active Avoidance Task.

The present study is the first to formally demonstrate, in a large sample of horses, such a long retention period for instrumental tasks. In both the Backward and Active Avoidance Tasks, no differences were observed in the number of horses that were successful between the last acquisition trial and the first recall trial conducted 22 months later. Previous studies have demonstrated long-term memory for instrumental tasks in horses, but after shorter retention periods ranging from a few weeks to a few months (4 weeks: Wolff et Hausberger 1996; LeScolan et al. 1997; 8 months: Sankey et al. 2010b). Only Hanggi and Ingersoll's study (2009) showed that horses are able to correctly recall complex problem-solving strategies after a longer period (7 years) than that used in the present study (22 months), but their study included only 3 horses. Long periods of retention have been reported in several species, often with small samples (e.g. retention intervals tested in rhesus monkeys, 7 years: Johnson et Davis 1973; elephants, 8 years: Markowitz et al. 1975; gorillas, 2.5 years: Patterson et Tzeng 1979; squirrel monkeys, 2 years: Burdyn et al. 1984; pigeons, 2 years: Vaughan et Greene 1984; sea lion, 10 years: Kastak et Schusterman 2002). The present study suggests that the horse might be a great model for the study of long-term memory since they are conveniently

available in relatively large numbers. Because the majority of the horses performed very well during the reacquisition session, influences of temperament on long-term memory could not be detected. Further investigations should be conducted aimed at inducing inter-individual variability in recall performance, either by increasing the retention interval or by using tasks that are more difficult to remember.

Horses progressively extinguished the learned responses in both the Backward and Active Avoidance Tasks and a high variability among individuals was observed in extinction performance. These results show that, for the Active Avoidance Task, the horses most resistant to extinction were also the least sensitive (tactile sensitivity). It is likely that a lower tactile sensitivity made those horses less sensitive to the negative outcome (an air puff emitted on the skin). Consequently, the omission of negative outcomes during extinction sessions may have had a lower impact on these horses. In addition, resistance to extinction in the Backward Task was positively correlated with one indicator of fearfulness. Resistance to extinction may reflect a lack of cognitive flexibility and a tendency toward perseveration (Malkki et al. 2011; Pearce 2008), which can be enhanced by stress (review: Holmes and Wellman 2009). Higher states of stress in fearful horses might explain this impairment of cognitive flexibility. Regarding the consistency of correlations with other fearfulness indicators, it is possible that with a larger sample, positive correlations between fearfulness and resistance to extinction would reach the level of statistical significance for both tasks. In contrast, the influence of tactile sensitivity may be more specific to the Active Avoidance Task. Thus, further investigations with larger samples are needed to determine which dimensions of temperament may generally influence the extinction processes, regardless of the learning task, and which dimensions may have a task-specific influence according to learning task characteristics, such as the nature of the outcome or, more interestingly, the cognitive demand of the task.

Ethical standards

Experiments reported in this study were conducted under a license from the French Ministry of Agriculture (no. 37-125). Neither alimentary restriction nor invasive or painful methods were used. During learning sessions, the stimuli used were positive (food reward) or negative but not painful (puff of air). Neither injury nor pain was observed in any horse. Most of the time, horses lived in their social group in a large outdoor paddock. An audience horse was

present during the tests to reduce stress induced by isolation during the tests. At the end of the experiment, horses returned to their habitual breeding conditions.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank Guy Duchamp, Fabrice Reigner, and their staff (INRA Nouzilly, France) for allowing the use of the animals and facilities. We would also like to thank Chantal Moussu and Aurélie Holtz for their assistance in data collection. This research has been supported by the COST of the 'Institut Français du Cheval et de l'Équitation' and the 'Région Centre'.

FIGURE CAPTIONS

Fig. 1 Number of Backward Task trials (out of 8) in which horses responded for each learning session (last acquisition session, reacquisition session, 1st, 2nd, and 3rd extinction sessions). Different letters indicate statistically significant differences, Wilcoxon tests, $P < 0.05$

Fig. 2 Number of Active Avoidance Task trials (out of 10) in which horses responded for each learning session (last acquisition session, reacquisition session, 1st and 2nd extinction sessions). Different letters indicate statistically significant differences, Wilcoxon tests, $P < 0.05$

Table 1. Correlations between the dimensions of temperament and performance during extinction sessions as function of the task (number of trials where the horses responded in the Backward and the Active Avoidance Task). Spearman's rank correlation: P' refers to P -values resulting from Bonferroni corrections, significant correlations are presented in bold ($P' < 0.05$, *NS*: non-significant)

Figures and tables

Figure 1

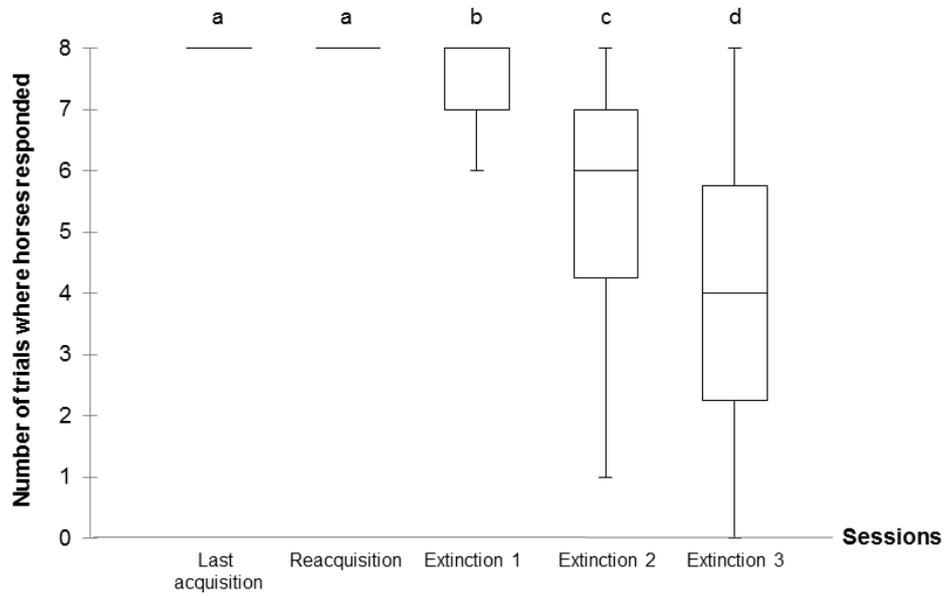


Figure 2

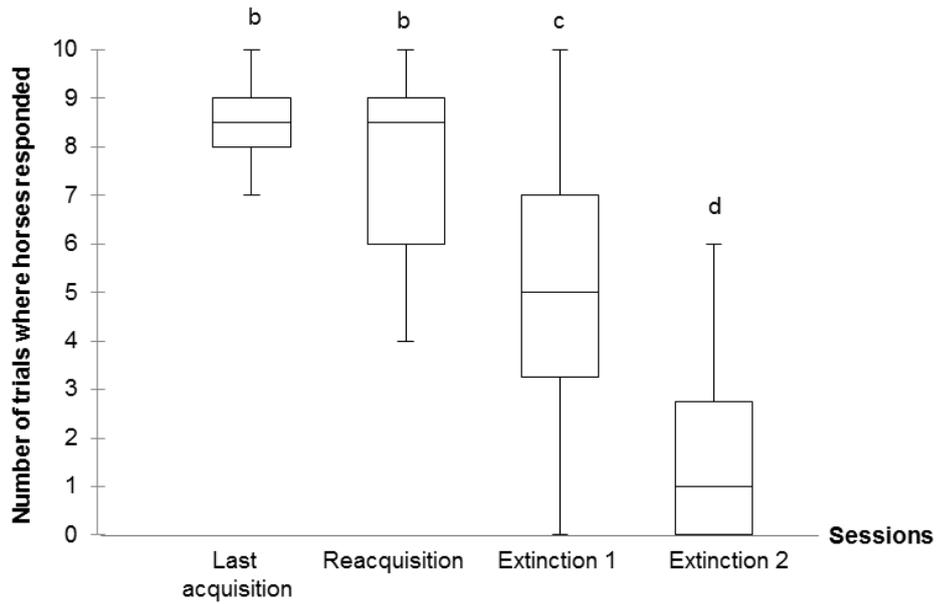


Table 1

Temperament variables	Active avoidance task	Backward task
Fearfulness		
Number of glances at the novel area	$r_s = 0.13, NS$	$r_s = \mathbf{0.58}; P' = \mathbf{0.02}$
Latency to put 1 foot on the novel area	$r_s = 0.01, NS$	$r_s = 0.16; NS$
Number of glances at the novel object	$r_s = 0.26, NS$	$r_s = -0.05; NS$
Number of contacts with novel object	$r_s = 0.01, NS$	$r_s = -0.38; NS$
Flight distance during surprise test	$r_s = 0.15, NS$	$r_s = 0.15; NS$
Number of blowing behaviours	$r_s = 0.35, NS$	$r_s = 0.24; NS$
Tactile sensitivity		
Number of reactions to von Frey filaments	$r_s = \mathbf{-0.57}, P' = \mathbf{0.03}$	$r_s = -0.02; NS$
Locomotor activity		
Number of areas crossed	$r_s = -0.05, NS$	$r_s = -0.30; NS$
Gregariousness		
Number of neighs during social isolation test	$r_s = 0.16, NS$	$r_s = -0.17; NS$
Reactivity to humans		
Number of contacts with passive human	$r_s = 0.17, NS$	$r_s = -0.01; NS$

E. Discussion et conclusion du chapitre 1

Les principaux résultats de l'étude qui composent ce chapitre sont :

(1) les chevaux présentent des performances de rappel intact après un délai de deux ans. Ce haut niveau de performance n'induit pas assez de variabilité pour évaluer les relations entre tempérament et performances de mémoire à très long-terme.

(2) les chevaux présentent une forte variabilité interindividuelle concernant leur capacité à éteindre les réponses instrumentales précédemment acquises et rappelées. Malgré le faible nombre de corrélations significatives observées, la recherche des liens avec le tempérament suggère que les chevaux les plus peureux pourraient être les plus résistants à l'extinction pour la tâche du reculer et les chevaux les moins sensibles d'un point de vue tactile pourraient être les plus résistants à l'extinction pour la tâche d'évitement actif.

Cette étude suggère donc que l'influence du tempérament sur les performances cognitives chez le cheval pourrait être spécifique à la phase d'apprentissage (acquisition *vs.* extinction) en plus d'être spécifique à la tâche utilisée (Lansade et Simon 2010). Tout d'abord, cela suggère que les processus d'acquisition et d'extinction feraient bien appel à des processus distincts chez le cheval, comme cela a été montré chez d'autres espèces comme la souris (Dillon et al. 2008; Malkki et al. 2011). Par ailleurs, nos résultats iraient dans le sens de nos hypothèses : un haut niveau de peur serait favorable à la résistance à l'extinction, comme cela a été montré dans le cadre de la tâche du reculer. Cette relation suggèrerait un déficit de flexibilité cognitive chez les individus peureux. Ce manque de flexibilité pourrait être induit par une prédominance de stratégies d'habitude ayant pour origine un plus haut niveau de stress chez les chevaux peureux que chez les chevaux moins peureux. Pour tester cette hypothèse, il serait intéressant de développer chez le cheval des tests spécifiques permettant de déterminer quel type de stratégie instrumentale est exprimé par un individu peureux (ex. test de dégradation de la contingence ou test de dévaluation de la récompense). Par ailleurs, il est intéressant de noter que pour les variables de peur, aussi bien dans le cadre de la tâche du reculer que de l'évitement actif, tous les indices de corrélation r_s supérieur à 0.1 suggèrent systématiquement une relation positive entre la dimension de peur et la résistance à l'extinction, ce qui encourage à mener d'autres études sur ce thème. Notamment, une étude menée sur un nombre plus important de chevaux pourrait permettre de confirmer ou non l'influence du tempérament qui est suggérée par nos résultats, dans la mesure où pour chaque

tâche, seule une variable de tempérament était significativement corrélée avec la performance d'extinction.

CHAPITRE 2 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques

A. Objectifs et contexte

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que le tempérament est relié aux performances d'apprentissage instrumentales en l'absence de stress extrinsèque, et que cette relation est spécifique aux types de tâche utilisée et de processus mis en jeu (acquisition ou extinction). L'objectif de ce chapitre et du suivant est d'intégrer la variable du stress dans l'étude de cette problématique. Ici, nous nous sommes intéressés en particulier à l'impact d'états de stress induits par l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques, c'est-à-dire des facteurs de stress indépendants de la tâche cognitive. Ce chapitre se compose de deux études, l'une portant sur l'influence du tempérament sur les performances de mémoire de travail, et l'autre sur les performances d'apprentissage d'une tâche instrumentale.

Dans le cadre de la première étude, nous nous sommes intéressés aux performances de mémoire de travail car il s'agit d'un processus cognitif indispensable à la formation de bon nombre d'apprentissages, dont les apprentissages instrumentaux. Chez le cheval, les capacités de mémoire de travail mises en évidence sont très variables d'une étude à une autre (Hanggi 2010; McLean 2004; Murphy 2009). Ainsi, l'étude de McLean (2004) suggère que la mémoire de travail des chevaux pour la localisation d'aliment aurait une durée quasi-nulle, alors que les études de Murphy (2009) et de Hanggi (2010) suggèrent qu'elle pourrait durer au moins 12 s, voire 30 s pour certains chevaux, comme c'est également le cas chez l'âne (Baragli et al. 2011). Par ailleurs, on observe chez les équidés une importante variabilité interindividuelle de performances de mémoire de travail (Baragli et al. 2011; Hanggi 2010), ce qui pourrait laisser penser que le tempérament puisse influencer ces performances. Enfin, la mémoire de travail est connue pour être particulièrement sensible à l'effet du stress (synthèse : Graybeal et al. 2012). Nous avons donc comparé l'influence du tempérament sur les performances de mémoire en l'absence et en présence de stress extrinsèque.

Dans la deuxième étude, nous nous sommes intéressés aux performances d'acquisition, de rappel et de réacquisition d'un apprentissage instrumental. Tout comme dans l'étude précédente, nous avons cherché à induire un état de stress pendant la session d'acquisition, mais également après, afin de cibler différentes phases de l'apprentissage sous-tendues par des processus cognitifs différents (Sandi et Pinelo-Nava 2007). Ainsi, nous avons testé les corrélations entre tempérament et performances d'acquisition et de réacquisition selon trois conditions : (1) exposition à un stress avant l'acquisition (afin que l'état de stress survienne

lorsque les processus d'acquisition sont a priori prédominants) (Diamond et al. 2006; Park et al. 2008), (2) exposition à un stress juste après l'acquisition (afin que l'état de stress survienne lorsque les processus de consolidation sont a priori prédominants) (Park et al. 2008; Youngblood et al. 1997; Janitzky et al. 2011b) et (3) sans exposition particulière à des facteurs de stress (conditions basales).

B. Hypothèses

Comme exposé précédemment, nous faisons l'hypothèse que les relations entre tempérament et performances cognitives varieront entre les conditions témoins et les différentes conditions de stress. Dans la mesure où les procédures de stress impliquent à la fois un isolement social temporaire et des stress de nouveauté et de soudaineté, nous nous attendons en particulier à ce que la relation entre les dimensions de peur ou de grégarité et performances d'apprentissage soit modulée par la présence ou non de facteurs de stress extrinsèques. Ainsi, l'effet d'un stress sur les performances d'apprentissage et de mémoire, qu'il soit positif ou négatif, pourrait être amplifié chez des animaux au tempérament peureux et grégaires.

C. Méthodologie générale

La tâche de mémoire de travail utilisée dans l'article 2 consistait en un test de choix avec délai. Un essai de test de choix se décompose typiquement en plusieurs étapes : tout d'abord, le cheval voit un expérimentateur cacher devant lui de la nourriture dans l'un des deux seaux placés devant lui. Ensuite, durant un délai allant de 0 à 20 secondes, on contraint le cheval à attendre. Evidemment, durant ce laps de temps, il ne peut pas voir l'aliment. Ensuite, après ce délai, le cheval a la possibilité de choisir de se rendre à l'un des deux seaux. Ces essais sont répétés en faisant varier de manière aléatoire la localisation l'aliment parmi les deux localisations possibles. Nous avons comparé les performances de mémoire de travail et ses relations avec le tempérament en l'absence ou en présence de facteurs de stress extrinsèques. En conditions stressantes, un état de stress était induit durant les tests de mémoire par exposition préalable et répétée au cours de la session à des facteurs de stress extrinsèques.

La tâche instrumentale utilisée dans l'article 3 de ce chapitre consistait à ce que le cheval apprenne à toucher avec le nez un objet pointé du doigt par un expérimentateur pour obtenir

de l'aliment. Cette tâche a été choisie car une expérience préliminaire nous a permis de constater que son acquisition était relativement rapide (une à deux sessions suffisait à ce que la majorité des chevaux réussissent plusieurs essais) et nous a donc permis de soumettre les chevaux à un unique épisode de stress, avant ou après la session d'acquisition.

Dans les deux études, le tempérament des chevaux a d'abord été évalué à partir des tests établis dans le modèle de Lansade et ses collaborateurs (2010). Ensuite, les performances cognitives globales, puis les corrélations entre tempérament et performances cognitives, ont été testées et comparées entre les conditions témoins et les différentes conditions stressantes. Les procédures de stress appliquées diffèrent entre les deux études. Comme nous le verrons dans la discussion de ce chapitre, cette différence est due à un ajustement méthodologique auquel nous avons procédé entre les deux expériences.

En parallèle aux mesures de tempérament et de performances cognitives, un certain nombre de paramètres comportementaux et physiologiques ont également été enregistrés afin d'évaluer l'état de stress des chevaux. Notamment, nous avons relevé des potentiels indicateurs de stress tels que les comportements de vigilance (ou comportements d'alerte) et les vocalisations (hennissements d'appel). Nous avons également relevé les comportements qui pourraient être relatifs au degré d'attention portée envers le dispositif expérimental ou l'expérimentateur, tels que les regards. Concernant les indices physiologiques, nous avons employé des méthodes non invasives : l'enregistrement de l'activité cardiaque dans la première étude (article de synthèse chez les animaux de ferme, dont le cheval : von Borell et al. 2007) et l'évaluation de la concentration en cortisol salivaire dans la deuxième étude (exemples d'études chez le cheval : Peeters et al. 2011; Preuss et Wolf 2009; Schmidt et al. 2010b).

D. Article 2

Valenchon, M., Lévy, F., Fortin, M., Leterrier, C. & Lansade, L. *En révision*. Stress and temperament affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*. *Animal Behaviour*.

Stress and temperament affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*

Mathilde Valençon^{*, a, b, c, d}, Frédéric Lévy^{a, b, c, d}, Margot Fortin^{a, b, c, d}, Christine Leterrier^{a, b, c, d}, Léa Lansade^{a, b, c, d}

^a INRA, Centre Val de Loire, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

^b CNRS, UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

^c Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France

^d IFCE, F-37380 Nouzilly, France

Abstract

The present study aimed to determine the influence of stress and temperament on working memory for disappearing food in horses. After assessment of five dimensions of temperament, working memory of horses was tested using a delayed-response task requiring a choice between two food locations. Delays ranging from 0 to 20 s were tested. The duration of working memory for disappearing food was first characterized without stressors ($N = 26$). The horses were then divided into two groups and their performance was assessed under stressful (exposure to acute stressors prior to testing, $N = 12$) or control conditions ($N = 12$). Results showed that the duration of working memory for disappearing food lasts at least 20 s under non-stressful conditions, and that under stressful conditions this duration lasts less than 12 s. This stress-induced impairment confirms in a non-rodent species that working memory performance is very sensitive to exposure to stressors. In addition, working memory performance in horses is influenced by the temperamental dimension of fearfulness according to the state of stress: fearful horses exhibited better performance under control conditions than non-fearful horses and worse performance under stressful conditions. These findings are discussed in the context of the Yerkes-Dodson law of stress and performance.

Keywords

Personality, temperament, fearfulness, emotion, individual differences, delayed-response task, stress, equid

Stress is broadly known to be a powerful modulator of cognitive processes (Sandi et Pinelo-Nava 2007; Mendl 1999; Schwabe et al. 2010). The facilitation of rapid and automatic processes (Schwabe et Wolf 2011a; Schwabe et al. 2007) helps the organism cope with a potential or actual threat, but also has the consequence of impairing higher-order cognitive functions that have a high energy cost (Arnsten 1998; Dukas 1999; Laughlin et Mendl 2004). Working memory, because it requires a high level of attention, is one of these cognitive functions with a high energy cost that are almost always impaired by stress. Working memory can be defined as a ‘representation of a cue over a delay period in which the cue is not present to make a subsequent appropriate response related to the cue’ (Dudchenko 2004; Honig 1978). It is characterized by its limited duration (from a few seconds to a few hours) and capacity (the number of items able to be held). In laboratory rodents, the stress-induced impairment of working memory and its mechanisms have been extensively studied and characterized (review: Graybeal et al. 2012). For instance, numerous studies have shown that exposure to both acute and chronic stressors impairs spatial working memory performance of mice and rats. These studies have used a wide array of stressors, such as acute exposure to predator stress (Diamond et al. 1999; Woodson et al. 2003), chronic restraint stress (Trofimiuk et Braszko 2008; Mika et al. 2012), and maternal separation (Brenhouse et Andersen 2011). However, little is known about the influence of stress on working memory performance in non-rodent species.

Since the response to a stressor can vary from one individual to another according to temperament (Curley et al. 2008; Coutellier et al. 2008; Scheid et Noë 2010), it can be hypothesized that stress and temperament may jointly influence working memory performance. Temperament, or personality, is defined as a set of individual behavioural differences, called traits or dimensions, that are relatively stable across various situations and over time (Goldsmith et al. 1987; Bates 1989; for a review see Gosling et John 1999). Several authors have recently demonstrated that temperament is related to cognitive performance in various memory and learning tasks (horses: Lansade et Simon 2010; e.g. primates: Hare et al. 2007; corvids: Range et al. 2006; Scheid et Noë 2010). Evidence supporting the hypothesis of a co-influence of stress and temperament on working memory has been reported by Brinks et al. (2007), who showed that stress-vulnerable mice exhibit superior spatial working memory performance compared to less stress-vulnerable mice. Similarly, in humans, Sorg and

Whitney (1992) showed that students with a highly anxious temperament exhibit superior working memory performance in comparison to students with a less anxious temperament. However, exposure to an acute stressor prior to the test inverts this relationship: under stressful conditions, students with a highly anxious temperament showed inferior test performance. However, how working memory is modulated by temperament and stress is still poorly understood in animals.

The present study aimed to investigate the influences of both stress and temperament on working memory abilities in horses. Horses were chosen because a multidimensional model of temperament has been well characterized, with five dimensions found to be stable over time and across situations: fearfulness, gregariousness, reactivity to humans, level of locomotor activity, and tactile sensitivity (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c). In addition, a better knowledge of the temporal characteristics of horse cognition is of prime interest, since this species is often subjected to cognitive challenges and stressors in both feral and domestic conditions. For instance, in equitation, a horse's welfare may be compromised if the trainer subjects it to a task requiring an excessive demand of working memory capacity (Murphy et Arkins 2007). Because contradictory results on the duration of working memory have been reported in horses (McLean 2004; Murphy 2009; Hanggi 2010), we first characterized working memory for disappearing food without stressors. We then determined the influence of exposure to acute stress on working memory performance and determined the relationships between temperament and working memory performance in both stressed and control horses.

METHODS

Experimental Design

During the first day of the experiment, the temperament of each horse was assessed (**Fig. 1**). Over the next days, horses were trained to the test procedure (two sessions/day). After training, working memory was characterized without stressors by submitting the horses to two sessions of working memory tests (phase 1). To evaluate the effect of stress on working memory (phase 2), horses were then divided into two groups: one group underwent

two sessions of working memory tests under control conditions (C) and the other group was tested under stressful conditions (S). During phases 1 and 2, each horse in each group was submitted to one session every two days.

Animals

Subjects were 30 female Welsh horses aged 7.2 ± 0.6 years (mean \pm SE), bred at the National Institute for Agronomic Research (INRA) of Nouzilly, France, and accustomed to being handled (regularly haltered and tethered). Before the experiment, the animals lived together outside in the summer and inside in the winter. During the experiment, they lived in pasture together and water was available ad libitum. When animals were tested, they were housed for half days in groups of three in boxes (6 m \times 3 m) with straw bedding. Experimental and control groups for phase 2 were balanced according to age, father, temperament, and performance during phase 1.

Temperament Tests

The temperament tests assessed five dimensions previously shown to be stable across situations and over time: fearfulness (Lansade et al. 2008a; Lansade et al. 2007), gregariousness (Lansade et al. 2008b), reactivity to humans (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2005), level of locomotor activity, and tactile sensitivity (Lansade et al. 2008c).

Experimental Apparatus

Tests were conducted in a loose box (2.7 m \times 8.1 m). Two observers were hidden behind a one-way mirror (**Fig. 2**). Six behavioural tests were conducted for a total testing period of approximately 30 min per horse. During these tests, parameters proven to be reliable indicators for each temperament dimension were recorded. An audience horse, chosen for its quietness, was tied up outside the box in order to be visible by the tested horse and to avoid a social isolation context.

Experimental Procedure

After a familiarisation phase during which the horse was allowed to become accustomed to the box for 360 s, the tests were conducted in the order presented below:

(1) Passive human test (reactivity to humans): The experimenter entered the loose box and stayed motionless for 180 s. The number of contacts (sniffing or nibbling the experimenter) was recorded. Both sniffing and nibbling are exploratory behaviours. During sniffing, the horse's nose touches or is near the target of interest (a few centimeters) and the horse is drawing air in through nostrils (McDonnell 2003b). During nibbling, the horse's jaws are closed and moved upward and downward against a support (McDonnell et Poulin 2002).

(2) Tactile sensitivity tests: One experimenter held the horse securely by a halter, and a second experimenter applied von Frey filaments (Stoelting, IL, USA) to the base of the horse's withers. These filaments consist of a hard plastic body connected to a nylon thread calibrated to exert a specific force on the skin. The filament was applied perpendicularly on the animal's skin until the nylon filament started to bend. The response was coded in binary form (trembling/not trembling) according to the reaction of the platysma muscle to the application of the filament. In the first part of the test, we applied a 0.008-g filament to the right side of the horse and a 300-g filament to its left side. The same procedure was repeated after the novel area test, except that we applied filaments of 0.02 g and 1 g to the right and left sides, respectively. The number of times the horse reacted to the filaments was recorded.

(3) Novel object test (fearfulness): This test assessed reactivity to novelty, which is a trait underlying the dimension of fearfulness. An object unfamiliar to the horse was placed in the pen for 180 s. The object was a horizontal piece of wood (diameter: 0.03 m; length: 1 m) with a vertical piece of green plastic (0.8 m × 0.8 m) and coloured filaments hung up. The number of contacts (sniffing or nibbling) and glances at the novel object and the amount of time spent near the novel object (i.e. when both of the horse's anterior hoofs were in the object's area, **Fig. 2**) were recorded.

(4) Social isolation test (gregariousness): The audience horse was removed from the sight and hearing of the tested horse and the number of neighs of the tested horse was recorded for 90 s.

(5) Novel area test (fearfulness): Like the novel object test, this test also assessed reactivity to novelty, a trait underlying the dimension of fearfulness. For this test, the floor of the test box was divided into three zones of 2.7 m × 2.7 m each (**Fig. 2**). The first zone corresponded to a start zone (on the right in **Fig. 2**), and the third zone was an arrival zone (on the left in **Fig. 2**) containing a familiar bucket filled with pellets. Immediately prior to the test, each horse underwent a habituation phase during which an experimenter led it by the halter to the start zone and released it so that it was free to go to the arrival zone to eat. This process was repeated three times. For the test itself, a pink carpet (2 m × 2.7 m) was placed in the second zone. As in the habituation stage, the experimenter released the horse in the start zone, and the time until the horse put one foot on the carpet was recorded, along with the number of glances at the carpet and the number of times the horse made blowing sounds. If the horse did not cross the carpet within 180 s, the test was terminated and a time of 181 s was assigned.

(6) Surprise test (fearfulness): This test assessed reactivity to suddenness, which is another trait underlying the dimension of fearfulness. A hidden experimenter opened a black umbrella in front of the animal 3 s after it started eating from the bucket of pellets (**Fig. 2**). The horse's flight distance following the opening of the umbrella was recorded.

In order to assess the dimension of locomotor activity, the box was virtually divided into six areas of equal size and the number of areas crossed during familiarization, the passive human test, and the novel object test was recorded.

Working Memory Test

Working memory abilities were investigated with a delayed-response task commonly used in non-rodent species (dog: Fiset et al. 2003; cat: Fiset et Dore 2006; chick: Regolin et al. 2005b; horse: McLean 2004) The task involves several different steps: first, the animal has to encode the location of a hidden item; second, it has to maintain a mental representation of this hidden item during a certain delay; and, third, it has to recall this information to access the reward. Because the longest delay tested with success on a large sample of horses was 12 s (Murphy 2009), we tested longer delays than 12 s (up to 20 s).

Experimental Apparatus

The test, adapted from McLean (2004) and Murphy (2009), took place in a box (6 m × 3 m) and consisted of a choice between two buckets, one containing pellets and the other empty (**Fig. 3**). The two buckets (0.30 m × 0.26 m) were attached to a wooden board and tilted so that the animals could not see the bottoms of the buckets from the start zone (for this test, the start zone was in the middle of the box, 1.5 m away from the buckets, **Fig. 3**). A layer of pellets was placed under removable bases in both buckets to avoid the possibility of a choice driven by olfactory cues. During testing, one experimenter held the horse while two observers recorded behaviours and the level of performance. To avoid social isolation, the audience horse used during the temperament tests was tied up outside the test box at a distance of 3 m.

Experimental Procedure

The procedure for each animal was composed of sessions of 28 consecutive trials in which the horse had to choose which of the two buckets contained the hidden food. Each trial was conducted as follows: the experimenter led the horse to the start position and held it with one hand on each side of the halter so that the horse faced the midline of the board between the two buckets in order to avoid any postural orientation toward one goal over the other. The experimenter then poured a handful of pellets (approximately 7 g) into one of the two buckets while keeping the horse still with his other hand, so that the horse could see and hear the food being poured. During a delay ranging from 0 to 20 s, the experimenter kept the horse immobilized by holding the halter with both hands. At the end of the delay, the experimenter released the horse. If the horse went to the bucket containing the food within 10 s, the trial was considered a success and the horse was allowed to consume the food. If the horse explored the incorrect bucket within 10 s, the trial was considered an error. If the horse did not make any choice within 10 s, the trial was considered an absence of choice. In the two latter cases, the horse did not receive any food. Horses were submitted first to the training to the test procedure, then to the phase of Characterisation of working memory (phase 1), and finally to the phase of Evaluation of the effect of stress on working memory (phase 2), as described below.

Training to the Test Procedure

Just before the first training session, each horse was free to explore the box four consecutive times until it had put its nose into each bucket and eaten the food in the bucket containing pellets. The food reward was randomly placed into one of the two buckets before the horse was led into the box (two times in the left bucket and two times in the right bucket). After exploration, the horse was immediately submitted to the first training session.

During the first training session, 28 trials with delays of 0 s were performed. From the second session until the end of the training procedure, the horse was submitted to 14 consecutive 0-s trials and then to 14 consecutive 4-s trials per session. The training criterion was to perform a session with 11 successful trials out of 14 at both the 0-s and 4-s delays. A minimum of three and a maximum of seven training sessions were conducted. Horses that failed to meet the training criterion even after seven sessions were not submitted to the working memory tests.

Phase 1: Characterization of Working Memory

During this phase, two sessions were conducted. A session was composed of 28 trials, with four trials of each of the following delays presented in the order listed: 0 s, 4 s, 8 s, 12 s, 16 s, 20 s, and 0 s. This procedure was chosen because we found in a pilot study that the horses' motivation was sometimes disrupted by exposing them too early to long delays. The four 0-s trials at the end of each session allowed the horse to be retrained and motivated for the next session; these trials were not included in the data analyses.

Phase 2: Evaluation of the Effect of Stress on Working Memory

During this phase, working memory performance was compared between stressed (group S, $N = 12$) and control horses (group C, $N = 12$). Both groups were submitted to two sessions during which the first 24 trials of each session were organized in four blocks of six trials followed by four 0-s trials that were not included in the data analyses (as during the previous phase). During each block of six trials, each delay (0, 4, 8, 12, 16, and 20 s) was tested once. The order of delay presentation was changed and was balanced among the blocks and sessions in order to balance the effect of stress across delays. Just before each block of six

trials, horses were released by an experimenter into a familiar box 2.4 m from the test box. The horse remained in the box for 30 s and was submitted to a stress procedure (S group) or a control procedure (C group):

Stress procedure: Unfamiliar elements were present in the box (tarpaulins and white sheets were hung on the walls), the audience horse was not visible, and horses were exposed to a series of three stressors. Each series consisted in an alternation of three various stimulations interspaced with 10 s and randomly distributed: sound emission (e.g. dog barks, bell ringing, people talking loudly), sudden movements (e.g. shaking of one tarpaulin or of one sheet), and introductions of an unfamiliar object into the box (e.g. colourful cardboard box, colourful balloons; M. Valenchon, F. Lévy, A. Prunier, C. Moussu, L. Calandreau & L. Lansade, unpublished data).

Control procedure: There were no unfamiliar elements in the box, the audience horse was visible, and the horse was not exposed to any experimental stressors.

After the control or stress procedure, the horse was led to the test box and a block of six consecutive working memory trials started.

Parameters Recorded During the Working Memory Tests

Cognitive Parameters

For each phase of the experiment, the percentage of successes of each horse was calculated according to the formula (number of successes) / (number of successes + number of errors); the number of successes and errors was summed over the two sessions. A percentage was calculated for each delay (0, 4, 8, 12, 16, and 20 s). Trials in which a choice was not made were not taken into account because it was not possible to determine whether the absence of choice was due to a memory deficit or a lack of motivation to search for food. In addition, for the phases 1 and 2, the performance of horses that exhibited more than 25% absence of response during at least one of the two sessions was not analysed.

Stress Indicators

During phase 2, the levels of stress of the horses in groups C and S were evaluated using behavioural and physiological stress indicators:

Behavioural parameters: During the delay-periods, we recorded the number of times the horse (1) was alert toward the environment outside the box (when the horse was immobile with its head raised and its ears either pointed forward or highly mobile), (2) glanced at the audience horse, (3) glanced at the experimenter, (4) explored the experimenter (sniffing or nibbling), and (5) made blowing sounds.

Physiological parameters: Cardiac activity was recorded to assess heart rate (HR) and heart rate variability (HRV) indices. The heart monitor system (Polar EQUINE RS800CX Science, Polar Oy, Finland) consisted of a flexible belt with two integrated electrodes, a transmitter, a separate storage device, and the corresponding software (Polar Pro Trainer, Version 5). The electrodes were placed behind the left humerus and across the sternum. The electrical conductivity was increased by the use of echographic gel. The storage device was fixed to the belt in range of the transmitter. The heart monitor system was programmed to store time series of interbeat intervals of consecutive heartbeats.

HR and HRV indices were calculated during four 5-min segments per session (eight segments per horse). Each segment started as soon as the horse started the first trial of each block of six trials. The 5-min duration was chosen because this was the minimal time taken by a horse to complete a six-trial block. The following indices were quantified for each set of eight segments: (1) the mean HR in beats per minute, (2) the root mean square of successive interbeat differences (RMSSD, ms), (3) the standard deviation of interbeat intervals (SDNN, ms), and (4) the RMSSD/SDNN ratio. HR represents the interaction between parasympathetic and sympathetic activation. Increased HR may be caused by sympathetic activity and/or by a decrease of vagal regulation. SDNN reflects the state of balance between sympathetic and parasympathetic activities of the heart. RMSSD and the RMSSD/SDNN ratio reflect the activity of the parasympathetic nervous system (review in farm animals: von Borell et al. 2007; e.g. studies in horses: Visser, Ellis & Van Reenen 2008; Visser et al. 2002; von Borstel, Pasing & Gauily 2011).

Ethical Note

The experiments reported in this paper were conducted under a license from the French Ministry of Agriculture (no. 37-125). The horses belonged to the experimental unit (UEPAO) of the INRA of Nouzilly that gave its permission for their animals to be used in this study. At the end of the experiment, the animals returned to normal breeding at the INRA station. The minimum number of animals needed to test for statistically significant differences was used. Neither injury nor pain was observed in the horses. The acute stressors used were inspired by real stressors often encountered by domestic animals: short-term social isolation lasting a few seconds combined with novel and sudden stimuli or events. Horses lived in social groups and were taken to a paddock daily. During the experimental period, no food restriction was used, and during the tests, only food rewards were used.

Statistical Analyses

Shapiro and Wilk tests of the collected data revealed deviation from normality, so non-parametric statistics were used. For each of the two phases (phase 1, characterization of working memory, and phase 2, evaluation of the effect of stress on working memory), unilateral Wilcoxon tests were used to evaluate if the percentage of successes observed for each delay was higher than the theoretical percentage of successes at chance level (50%). Friedman tests, followed by bilateral Wilcoxon tests, were used to compare the percentages of successes between the different delays during phase 1. Bilateral Mann-Whitney *U* tests were used to compare groups S and C. Spearman rank correlation coefficients were calculated to evaluate the correlations between working memory performance and temperament parameters. To avoid an excessive number of correlation tests, we used one global variable to represent working memory performance for each horse. This global variable was calculated as the mean of the percentages of successes for all delays from 4 to 20 s. Statistical analyses were performed using the statistical software XLSTAT (Addinsoft Software, Paris, France). The level of statistical significance was set at $P \leq 0.05$ and the level of tendency at $P \leq 0.10$.

RESULTS

Training to the Test Procedure and Sample Sizes

The number of sessions needed to reach the training criterion was 3.85 ± 0.20 (Mean \pm SE). Two horses did not reach the criterion and thus were not included in the experiment. In addition, the performance of two horses during phase 1 and of four horses during phase 2 (two horses in each experimental group) were not analysed because they exhibited more than 25% absence of choice. Thus, analyses were conducted on the data from 26 horses for phase 1 and from two groups of 12 horses each for phase 2.

Characterization of Working Memory

During phase 1, the percentage of successes was significantly above chance level for all delays (**Fig. 4**, unilateral Wilcoxon signed-ranks tests: $V_{0\text{ s}} = 378$, $N = 26$, $P_{0\text{ s}} < 0.001$; $V_{4\text{ s}} = 305$, $N = 26$, $P_{4\text{ s}} < 0.001$; $V_{8\text{ s}} = 235$, $N = 26$, $P_{8\text{ s}} < 0.001$; $V_{12\text{ s}} = 186$, $N = 26$, $P_{12\text{ s}} < 0.001$; $V_{16\text{ s}} = 149$, $N = 26$, $P_{16\text{ s}} < 0.01$; $V_{20\text{ s}} = 180$, $N = 26$, $P_{20\text{ s}} < 0.01$). The percentage of successes decreased as delay durations increased. Performance at the 0-s delay was significantly better than performance at the 4-s, 8-s, 12-s, 16-s, and 20-s delays (bilateral Wilcoxon signed-ranks tests, 0 s vs. 4 s: $V = 216$, $N = 26$, $P < 0.001$; 0 s vs. 8 s: $V = 293$, $N = 26$, $P < 0.001$; 0 s vs. 12 s: $V = 348$, $N = 26$, $P < 0.001$; 0 s vs. 16 s: $V = 322$, $N = 26$, $P < 0.001$; 0 s vs. 20 s: $V = 325$, $N = 26$, $P < 0.001$). In addition, performance after both the 4-s and 8-s delays was significantly better than performance after the 16-s and 20-s-delays (bilateral Wilcoxon signed-ranks tests, 4 s vs. 16 s: $V = 183$, $N = 26$, $P < 0.01$; 4 s vs. 20 s: $V = 238$, $N = 26$, $P < 0.01$; 8 s vs. 16 s: $V = 183$, $N = 26$, $P < 0.01$; 8 s vs. 20 s: $V = 238$, $N = 26$, $P < 0.01$).

Evaluation of the Effect of Stress on Working Memory

In phase 2, the delays were no longer presented in increasing order, but rather were randomized, with each delay length presented once during each block of six trials conducted after control or stress procedure. In control horses, the percentage of successes was significantly above chance for the delays of 0 s, 4 s, 8 s, 16 s, and 20 s and tended to be above chance for the 12-s delay (**Fig. 5**, unilateral Wilcoxon signed-ranks tests: $V_{0\text{ s}} = 53.5$, $N = 12$, $P_{0\text{ s}} < 0.01$; $V_{4\text{ s}} = 55$, $N = 12$, $P_{4\text{ s}} < 0.01$; $V_{8\text{ s}} = 62.5$, $N = 12$, $P_{8\text{ s}} < 0.01$; $V_{12\text{ s}} = 24$, $N = 12$, P_{12

$s = 0.09$; $V_{16s} = 39.5$, $N = 12$, $P_{16s} < 0.05$; $V_{20s} = 39.5$, $N = 12$, $P_{20s} < 0.05$). In stressed horses, the percentage of successes was significantly above chance only for the 0-s, 4-s, and 8-s delays (**Fig. 5**, unilateral Wilcoxon signed-ranks tests: $V_{0s} = 55$, $N = 12$, $P_{0s} < 0.01$; $V_{4s} = 61$, $N = 12$, $P_{4s} = 0.01$; $V_{8s} = 21$, $N = 12$, $P_{8s} < 0.05$).

Influence of Stress on Behavioural and Physiological Parameters

Stressed horses exhibited more alert postures, and tended to glance more often at the audience horse than control horses (Mann-Whitney U tests, alert: Mean_(C) \pm SE = 11.8 ± 1.4 , Mean_(S) \pm SE = 23.3 ± 3.8 , $U = 22$, $N_{(C)} = 12$, $N_{(S)} = 12$, $P < 0.01$; glancing at the audience horse: Mean_(C) \pm SE = 9.7 ± 1.4 , Mean_(S) \pm SE = 17.3 ± 2.9 , $U = 48$, $N_{(C)} = 12$, $N_{(S)} = 12$, $P = 0.08$). Stressed horses also exhibited significantly higher heart rates, lower RMSSD, and lower RMSSD/SDNN ratios than control horses (**Table 1**). Stressed and control horses did not differ in exploring or glancing at the experimenter or in SDNN (Mann-Whitney U tests, exploring the experimenter: Mean_(C) \pm SE = 7.1 ± 1.9 , Mean_(S) \pm SE = 5.3 ± 1.9 , $U = 83.5$, $N_{(C)} = 12$, $N_{(S)} = 12$, NS; glancing at the experimenter: Mean_(C) \pm SE = 8.8 ± 1.9 , Mean_(S) \pm SE = 8.5 ± 1.2 , $U = 71.5$, $N_{(C)} = 12$, $N_{(S)} = 12$, NS; SDNN: see **Table 1**).

Influence of Temperament on Working Memory Performance

During phase 1 (Characterization of working memory), global working memory performance (the mean percentage of all successes for all delays from 4 to 20 s) was positively correlated with fearfulness indicators: horses that spent less time near the novel object or that expressed more blowing during the novel area test exhibited better working memory performance (Spearman rank correlations, time near the novel object: $r_s = -0.46$, $N = 26$, $P < 0.05$; number of blowing sounds: $r_s = 0.42$, $N = 26$, $P < 0.05$).

During phase 2 (Evaluation of the effect of stress on working memory), global working memory performance of control horses was positively correlated with fearfulness indicators: horses that glanced more at the novel object and had longer flight distances during the surprise test exhibited better working memory performance (Spearman rank correlations, glancing at the novel object: $r_s = 0.77$, $N = 12$, $P < 0.01$; flight distance during surprise test: $r_s = 0.74$, $N = 12$, $P < 0.01$). In contrast, global working memory performance of stressed horses was negatively correlated with indicators of fearfulness: horses that glanced more at the novel

object and at the carpet in the novel area test exhibited lower working memory performance (Spearman rank correlations, glancing at the novel object: $r_s = -0.78$, $N = 12$, $P < 0.01$; glancing at the carpet in the novel area test: $r_s = -0.71$, $N = 12$, $P = 0.01$).

DISCUSSION

The present study shows that in horses, the duration of working memory for disappearing food lasts at least 20 s, but under stressful conditions, this duration lasts less than 12 s. In addition, working memory performance is influenced by temperament according to the state of stress: fearful horses performed better than non-fearful horses under non-stressful conditions but worse under stressful conditions.

Duration of Working Memory for Disappearing Food is at least 20 s

Working memory for disappearing food lasted at least 20 s during both phases of the experiment. This is the first evidence of such a long duration using a large sample of horses. Previously, the longest delay tested with success using the same paradigm in horses was 12 s (Murphy (2009), a finding that contradicted McLean's study (2004), in which horses failed the disappearing food task with 10-s delays. Our protocol parameters may account for the better performance of our horses. For instance, the use of restraint and a closed test area might have reduced interference, which is known to be deleterious to working memory performance. This phenomenon of interference might explain why control horses performed slightly worse during phase 2 of the experiment, when they were exposed to control procedures between the trials and delays were not presented in increasing order but in mixed order, than during phase 1. In addition, in the present study, horses were submitted to a training phase that included trials with 4-s delays in order to train them to wait before making any choice. Finally, the distance between the horses and the reward buckets was shorter than in the other studies, and this factor might have increased motivation to search for food. The horses in the present study always succeeded at a rate above chance level, but performance decreased gradually with longer delays and was close to chance level at the highest delays, suggesting that 20 s might be close to the maximal duration of working memory for disappearing food in horses. In addition, we do not exclude the possibility that individual animals might be able to perform well with delays longer than 20 s, as suggested by Baragli (2011) and Hanggi (2010), who

showed that some equids performed above chance with 30-s delays in tests conducted with four donkeys (Baragli et al. 2011) and one horse (Hanggi 2010).

A maximal duration of working memory for disappearing food of 20–30 s suggests that the working memory capacity of horses is limited in comparison to other species such as carnivores or birds that show good working memory with delays of 60 s or longer (dogs: Fiset et al. 2003; cats: Fiset et Dore 2006; chicks: Regolin et al. 2005a; Regolin et al. 2005b). Although all these studies used similar paradigms of disappearing food, variations of protocol should be noted, such as number of possible hidden-food locations. However, variations in task complexity do not seem to explain differences across species. Indeed, the best performers, cats and dogs (Fiset et al. 2003; Fiset et Dore 2006), were tested with a four-choice system, whereas horses, the worst performers, were tested with a two-choice system that should be simpler. Therefore, it may be that these species differences are induced by differences of ecological characteristics, such as the type of feeding behaviour encountered under naturalistic conditions. Indeed, many authors argue that different selective pressures might have led to species-specific cognitive abilities (Haupt et al. 2010). For instance, predation requires particularly good working memory ability to maintain a mental representation of the prey's spatial location even when the prey is out of sight, while the sessile nature of the horse's grazing diet does not seem to require such delayed responses (McLean 2004; Pepperberg 2002; Fiset et Dore 2006). On the other hand, working memory duration in horses might be superior to other species for other kinds of stimuli. Indeed, working memory duration is known to depend on the usefulness, salience, or the nature of the to-be-remembered stimulus (Dudchenko 2004). For instance, Regolin et al. (2005b) showed that working memory performance is better for social stimuli than for food stimuli in chicks. This could also be the case for horses, social animals (Waring 2003) whose social interactions and organization involve cognitive processes.

Duration of Working Memory for Disappearing Food is Reduced under Stressful Conditions

Working memory was impaired when horses were stressed: performance was not above chance for delays of 12 s or longer. Heart rate and heart rate variability analysis confirmed that horses from the stressed group showed significantly more stress than horses from the control group during the two sessions of phase 2. Indeed, the fact that horses in the

stressed group exhibited higher HR and lower RMSSD and RMSSD/SDNN ratios suggests a dominance of the activation of the sympathetic nervous system, characteristic of a physiological state of stress (Bachmann et al. 2003; Visser et al. 2002; von Borell et al. 2007). This deleterious effect of stress on working memory is in accordance with many studies conducted in laboratory rodents (for a review see Graybeal et al. 2012). Indeed, spatial working memory in mice and rats is known to be consistently impaired by previous exposure to a wide array of both acute and chronic (e.g. tail-pinch stress: Butts et al. 2011; predator stress: Diamond et al. 1999; Woodson et al. 2003; chronic restraint stress: Mika et al. 2012). Our study shows that stress-induced impairment of working memory is also observed in a non-rodent species and in a very different task from those used in rodents (e.g. radial arm maze, radial water maze, Morris water maze, and delayed alternation T-maze). Deficits in working memory performance are commonly produced by a stress-specific disruption of neurophysiological processes and/or by a modification of nonmnemonic variables (such as attention) induced by the stressor (Woodson et al. 2003). Although our study does not allow us to conclude whether an alteration in neurophysiological processes is involved, we did observe some behavioural differences between control and stressed horses. Stressed horses expressed more alert behaviours toward the environment outside the test box and tended to glance more often at the audience horse. These differences suggest that stressed horses focused more on the environment and were thus less able to sustain their attention to the degree necessary to maintain a mental representation of the food location. Therefore, stress has a strong negative effect on working memory performance in horses, comparable to the well-known impairment observed in rodents, and this impairment might have been produced, at least partly, by an impaired attention to the task.

Stress Inverts the Influence of Fearfulness on Working Memory Performance

Among the five dimensions of temperament explored, only the dimension of fearfulness was found to influence the working memory performance of horses. The indicators of fearfulness that correlated with performance varied between the experimental phases and conditions, but taken together, the results lead to a consistent conclusion: fearful animals perform better than non-fearful animals under non-stressful conditions, but worse under stressful conditions. A previous study conducted in humans showed similar results: under non-stressful conditions, students with a highly anxious temperament were the better performers in a working memory task, but their performance was worse than less anxious

students when stressors were added (Sorg et Whitney 1992). These variable effects of fearfulness according to the level of stress might be explained by the Yerkes-Dodson law (1908). In the first part of the inverted-U shape of the graph used to illustrate the law, low states of stress enhance cognitive performance (Yerkes et Dodson 1908; for a review see Sandi et Pinelo-Nava 2007). Fearful individuals are characterized by a greater reactivity to a large array of stimuli (Lansade et al. 2008a). Thus, the requirements of a cognitive task, which may be a type of stressor (Langbein et al. 2004), might have induced a low state of stress favouring the cognitive abilities of fearful horses. This positive effect of fearfulness is in accordance with Brinks' study (2007) showing that mice from a stress-vulnerable strain exhibit superior spatial working memory performance compared to mice from a non-stress-vulnerable strain. Superior working memory may explain previous demonstrations that fearfulness is related to better learning and long-term memory performance under non-stressful conditions (e.g. Lansade et Simon 2010; Budaev et Zhuikov 1998), since working memory is required to establish the kinds of associations required for learning and long-term memory. While low states of stress enhance cognitive performance and might have been an advantage to fearful horses under non-stressful conditions, the Yerkes-Dodson law also explains that with higher intensities of stress, the cognitive performance decreases with increases in stress intensity. In the present study, exposure to stressors induced a general impairment of performance for all horses, but fearful horses showed greater impairments, perhaps because of a higher susceptibility to the deleterious effects of stress on working memory performance. Therefore, the present study illustrates how, in a changing environment, the same animal may be either advantaged or disadvantaged by its temperament according to the level of stress in the environment.

Figure captions

Figure 1. Schematization of the experimental protocol.

Figure 2. Apparatus used for the temperament tests.

Figure 3. Apparatus used for the working memory tests. In this example, the handler pours pellets into the left bucket; the trial would be a success if the horse, when released by the experimenter, explores the left bucket within 10 s).

Figure 4. Mean percentage of successful trials for each delay compared to chance level. Unilateral Wilcoxon signed-ranks tests, $N = 26$, *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$. Error bars: standard error.

Figure 5. Mean percentage of successful trials as a function of the experimental group (stress or control) for each delay tested. Comparisons with chance level: unilateral Wilcoxon signed-ranks tests, $N_{(s)} = 12$, $N_{(c)} = 12$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, # $P = 0.09$.

Table 1. Comparisons of HR and HRV indices (means \pm SE) between control (C) and stressed (S) groups. Mann-Whitney U tests, NS, non-significant. The indices of two control horses could not be analysed because of a technical problem encountered during the recording.

Figures

Figure 1.

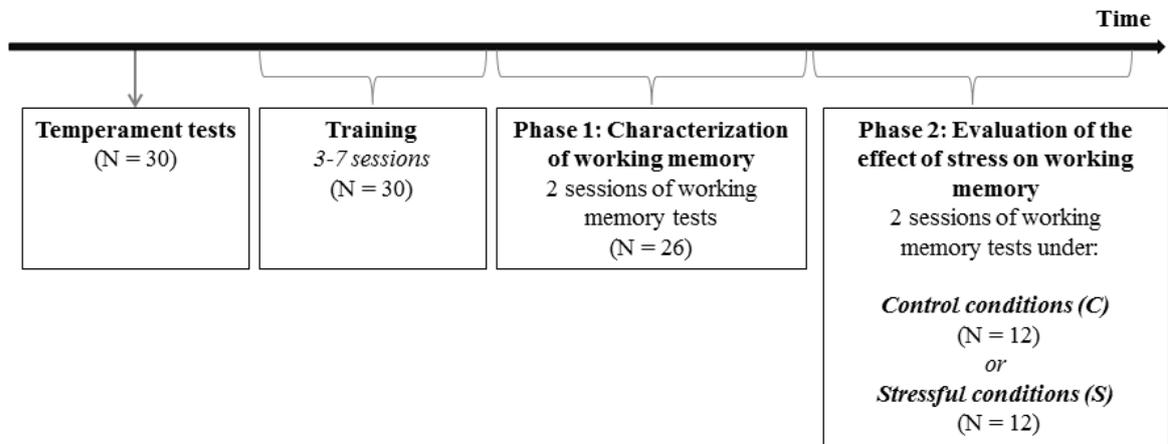


Figure 2.

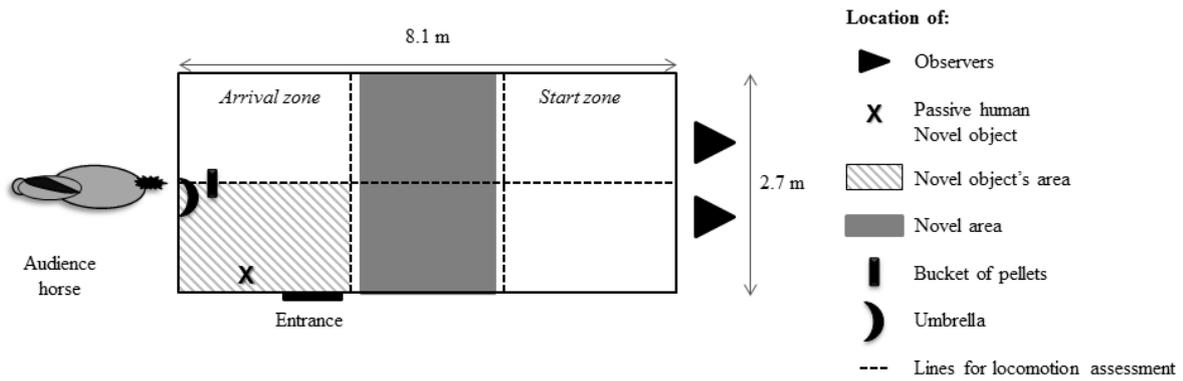


Figure 3.

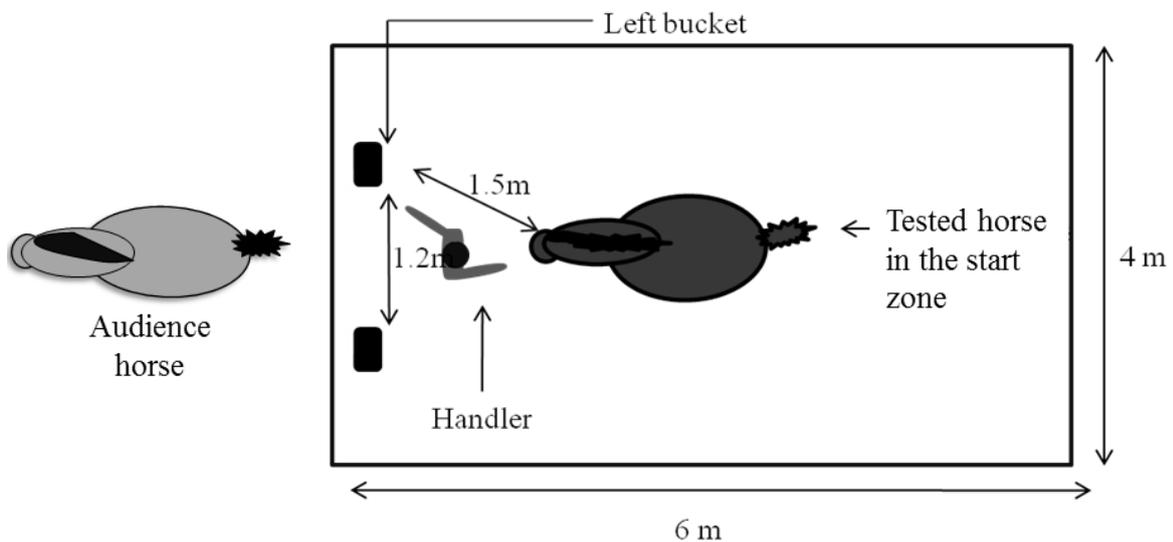


Figure 4.

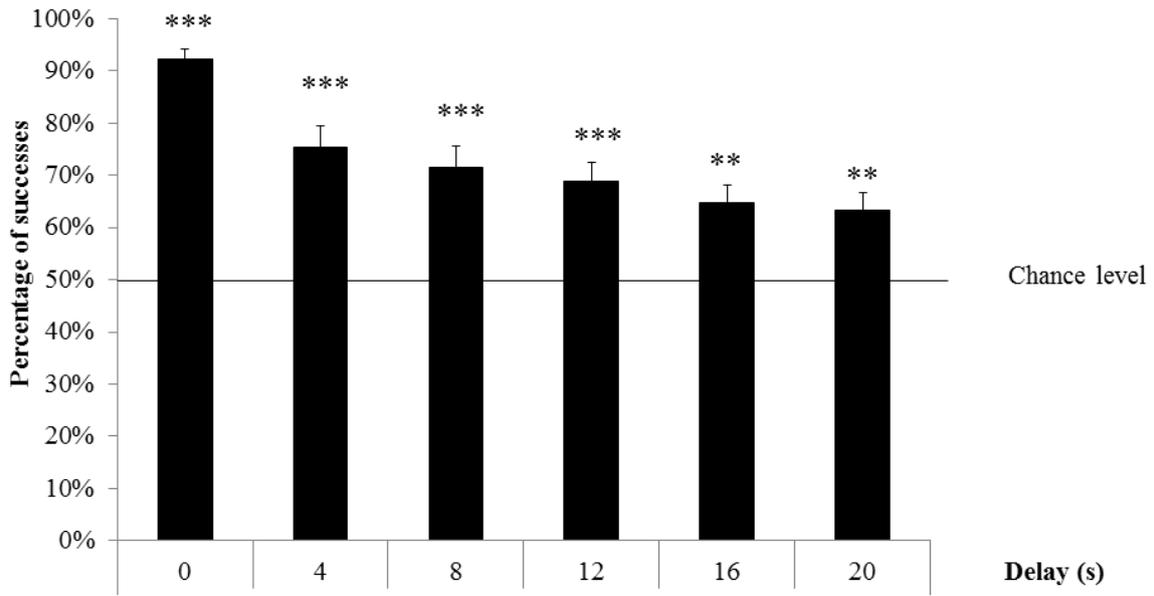
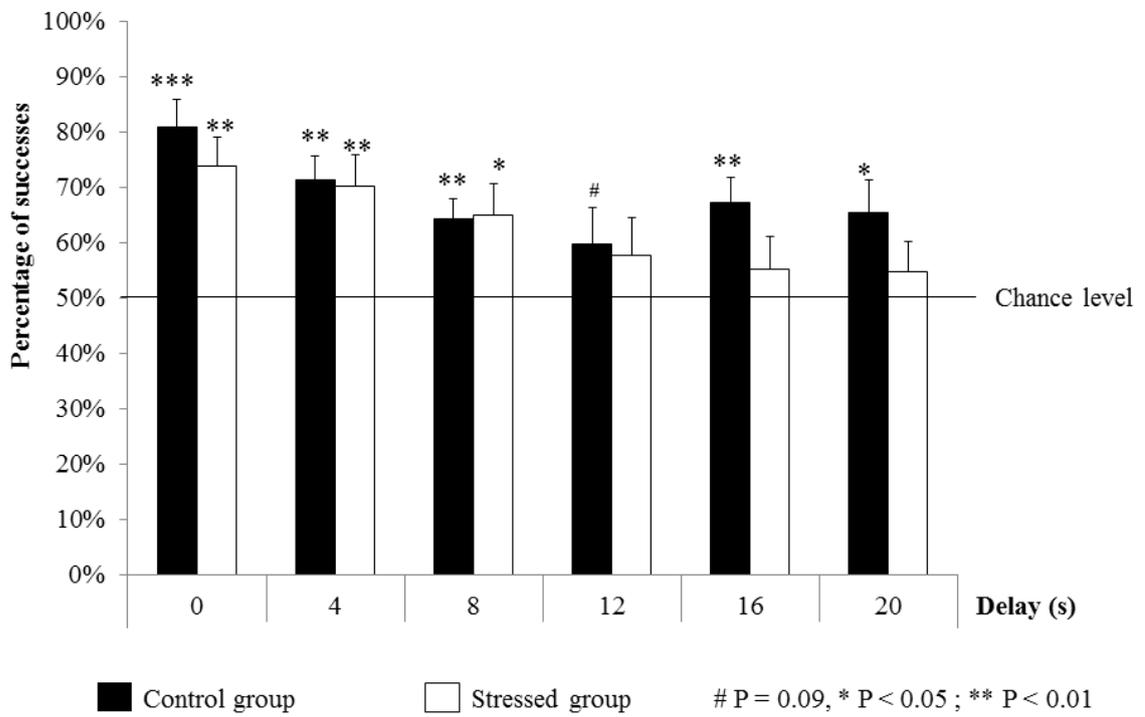


Figure 5.



E. Article 3

Valenchon, M., Lévy, F., Prunier, A., Moussu, C., Calandreau, L. & Lansade, L. 2013. Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament. *Plos One*, 8, e62324.

Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament

Mathilde Valençon^{1,2,3,4}, Frédéric Lévy^{1,2,3,4}, Armelle Prunier^{5,6}, Chantal Moussu^{1,2,3,4}, Ludovic Calandreau^{1,2,3,4}, Léa Lansade^{1,2,3,4*}

1 INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France, **2** CNRS, UMR7247 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France, **3** Université François Rabelais de Tours, Tours, France, **4** IFCE, Nouzilly, France, **5** INRA, UMR1348 PEGASE, Saint-Gilles, France, **6** Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, Rennes, France

Abstract

The present study investigates how the temperament of the animal affects the influence of acute stress on the acquisition and reacquisition processes of a learning task. After temperament was assessed, horses were subjected to a stressor before or after the acquisition session of an instrumental task. Eight days later, horses were subjected to a reacquisition session without any stressor. Stress before acquisition tended to enhance the number of successes at the beginning of the acquisition session. Eight days later, during the reacquisition session, contrary to non-stressed animals, horses stressed after acquisition, and, to a lesser extent, horses stressed before acquisition, did not improve their performance between acquisition and reacquisition sessions. Temperament influenced learning performances in stressed horses only. Particularly, locomotor activity improved performances whereas fearfulness impaired them under stressful conditions. Results suggest that direct exposure to a stressor tended to increase acquisition performances, whereas a state of stress induced by the memory of a stressor, because it has been previously associated with the learning context, impaired reacquisition performances. The negative effect of a state of stress on reacquisition performances appeared to be stronger when exposure to the stressor occurred after rather than before the acquisition session. Temperament had an impact on both acquisition and reacquisition processes, but under stressful conditions only. These results suggest that stress is necessary to reveal the influence of temperament on cognitive performances.

Citation: Valençon M, Lévy F, Prunier A, Moussu C, Calandreau L, et al. (2013) Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament. PLoS ONE 8(4): e62324. doi:10.1371/journal.pone.0062324

Editor: Johan J. Bolhuis, Utrecht University, Netherlands

Received: January 14, 2013; **Accepted:** March 20, 2013; **Published:** April 23, 2013

Copyright: © 2013 Valençon et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This research has been supported by the COST of the "Institut Français du Cheval et de l'Équitation" (<http://www.haras-nationaux.fr/mieux-nous-connaître/la-recherche-equine/le-comite-dorientation-scientifique-et-technique-cost.html>) and the "Région Centre" (<http://www.regioncentre.fr/accueil.html>). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

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

* E-mail: lea.lansade@tours.inra.fr

Introduction

The relationship between stress and cognition has been studied extensively in the past few decades (reviewed by [1–4]), but little is known about the variability of this phenomenon among individuals. This variability may depend on behavioral characteristics of individuals, such as temperament [5]. In recent years, very few authors have explored these relationships among stress, cognition, and temperament. Among them, Jiao et al. [6] illustrated how stress and dimension of anxiety co-influence learning performances. Rats from two strains (Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley) that differed in their anxiety levels were compared in terms of acquisition and extinction of an instrumental task associated with two different intensities of stressors. The authors showed that the most anxious rats extinguished slower the task with the higher intensity of stressor than with the lesser intensity of stressor, whereas there was no effect of the intensity of stressor in less anxious rats. These data suggest that the influence of stress on cognitive performances may differ according to the temperament of individuals. However, the authors typically focused on only one dimension related to anxiety, whereas many other behavioral dimensions characterize an individual.

Therefore, we studied the influences of several dimensions of temperament and stress on learning performances in horses. For this, we used a complete model of temperament developed in this species that does not exist in usual experimental models as rodents. This model characterizes each individual on the basis of five dimensions of temperament that were previously shown as stable over time and across situations [7,8]: fearfulness, gregariousness, reactivity to humans, level of locomotor activity, and tactile sensitivity [9–12]. Also, a better knowledge of the influence of both temperament and stress on horse cognition is of prime interest, since this species is often subjected to cognitive challenges and stressors in both feral and domestic conditions. As an applied perspective, the current study might allow to personalize training conditions according to the temperament of each horse.

To evaluate the influence of stress, horses were exposed to an acute stressor just before or just after the acquisition of the task. Depending on its timing, it should affect preferentially the acquisition or the consolidation processes. We focused on these distinct processes because several authors showed that the influence of stress on learning performances also depends on which stage of memory is involved (reviewed by [13]). For instance, a state of stress when acquisition processes are pre-

dominant may enhance (e.g. in humans [14]) or impair performances (e.g. in rodents [15,16]). Opposite effects are also reported with stress after acquisition in rodents. Indeed, a state of stress when consolidation processes are predominant may either impair [13,16,17], have no effect [18], or even potentiate ulterior performances of retrieval or reacquisition [19].

Learning performances in horses were investigated with an instrumental task that consisted of touching a distally indicated cone with its nose to obtain a food reward. This task was chosen due to its difficulty, with the expectation that not all subjects would be successful, thus inducing variability among individuals. This variability is necessary to evaluate the influence of temperament. We have assessed acquisition, retrieval after one week, and reacquisition performances. The overall aims of this research were to determine whether the timing of stress affects learning performances, and whether temperament influences performances differentially according to this stress.

Materials and Methods

Animals

Forty-nine female Welsh ponies (age 7 ± 1 years old) were randomly divided into three groups: SB group (stressed before acquisition, $N = 15$), SA group (stressed after acquisition, $N = 15$), and NS group (non-stressed, $N = 19$). These horses were bred together at the experimental unit of the INRA of Nouzilly (National Institute for Agricultural Research, France) and they were accustomed to being handled (regularly haltered and tethered). Before the experiment, the horses lived together outdoors during summer and indoors during winter. During the experimental period, the animals were randomly housed in groups of 3 per small stable ($3.5 \text{ m} \times 5.4 \text{ m}$) or 10 per large stable ($10 \text{ m} \times 10 \text{ m}$). The allotment to the small and large stables changed randomly every day, regardless of the experimental group. All horses spent 2 h daily in a large outdoor paddock together ($75 \text{ m} \times 75 \text{ m}$). They had straw bedding and received concentrated food (pellets) twice a day. No food deprivation was used. Water was available ad libitum.

Temperament Tests

Before the learning task, we assessed the temperament of each horse. Five dimensions of the horses temperament—fearfulness, gregariousness, reactivity to humans, level of locomotor activity, and tactile sensitivity—were assessed according to the procedures of Lansade et al. [9–12] adapted from LeScolan et al., Wolff et al., and Visser et al. [20–22].

Experimental apparatus. Tests occurred in a box ($2.7 \times 8.1 \text{ m}$). Two observers were hidden behind a one-way mirror. A familiar audience horse was attached outside the box on the opposite side. The tested horse could see the audience horse; thus, social isolation was avoided (**Fig. 1**). Six behavioral tests were conducted over a period of approximately 30 min per horse. Each test has been validated to assess one temperament dimension. We recorded behavioral parameters that appear to be reliable indicators of temperament owing to their stability over time and across different situations [9–12]. They are indicated at the end of each test procedure.

Experimental procedure. After a habituation phase where the horse was free in the loose box for 360 s, the tests occurred exactly in the order presented below:

(1) Passive human test (reactivity to humans): to assess reactivity to humans [9], the experimenter entered the box and stayed motionless for 180 s. We recorded the number of sniffing and nibbling at the experimenter (nibbling is an exploratory behavior

where the horse's jaws are closed and move upward and downward against a support [23]).

(2) Tactile sensitivity test: to measure the dimension of tactile sensitivity [12], the experimenter held the horse and a second experimenter applied a von Frey filament (Stoelting, IL, USA) to the base of the horse's withers. This filament consists of a hard plastic body connected to a nylon thread. It was calibrated to exert a specific force on the skin, from 0.008 g to 300 g. The filament was applied perpendicularly on the animal's skin until the nylon filament started to bend. The response was coded in a binary form (trembling/not trembling) according to the reaction of the platysma muscle to the filament application. In the first part of the test, we applied a 0.008-g filament to the right side of the horse and then a 300-g filament on its left side. The same procedure was repeated between the novel area test and the surprise test (explained below), except that we applied filaments of 0.02 g and 1 g respectively. We recorded the number of times the horses responded to the filaments. The most sensitive horses were the ones who responded the most often.

(3) Novel object test (fearfulness): this test assessed the horse's reactivity to novelty, which is a trait underlying the dimension of fearfulness [10]. An object, unknown to the horse, was placed in the box for 180 s. The object constituted of a horizontal piece of wood (diameter: 0.03 m; length: 1 m) surrounded by a piece of green plastic (height: 0.8 m) and colored filaments. We recorded the numbers of sniffing, nibbling, and glancing at the novel object.

(4) Social isolation test (gregariousness): to assess gregariousness [11], the audience horse was removed from the sight and sound of the tested horse for 90 s and we recorded the number of neighs of the tested horse.

(5) Novel area test (fearfulness): this test also assessed reactivity to novelty, which is a trait underlying the dimension of fearfulness [10]. The floor of the loose box was divided into three zones, each $2.7 \text{ m} \times 2.7 \text{ m}$ (**Fig. 1**). The first zone was the starting zone (on the right in **Fig. 1**), and the third zone, the arrival zone (on the left in **Fig. 1**). The arrival zone contained a bucket of pellets that the horses were familiar with. Just before the test, the horses underwent a habituation phase during which they learned how to go from the starting zone to the arrival zone. To achieve this, an experimenter led the horse by the halter to the starting zone and released it so that it was free to go to the arrival zone for eating. This procedure was repeated three times. Then, a pink carpet ($2 \text{ m} \times 2.7 \text{ m}$) was placed in the second zone. As in the habituation stage, the experimenter released the horse into the starting zone and recorded the time taken to cross the carpet. If the horse did not cross the area within 180 s, the test was ended and a time of 181 s was assigned.

(6) Surprise test (fearfulness): this test assessed reactivity to suddenness, which is another trait underlying the dimension of fearfulness [10]. The experimenter, not visible to the horse, opened a black umbrella in front of the animal 3 s after it started eating from the bucket of pellets placed near the entrance (**Fig. 1**). The time taken by the horse to resume eating was recorded. If the horse did not resume eating within 180 s, the experimenter stopped the test and assigned a time of 181 s. We also recorded the flight distance.

In addition, the loose box was virtually divided into six areas of equal size to assess the level of locomotor activity. We recorded the number of areas crossed and the amount of trotting during the habituation phase, passive human test, social isolation test, and novel object test.

Finally, we continuously recorded the number of startled reactions and blowing during the temperament tests (except

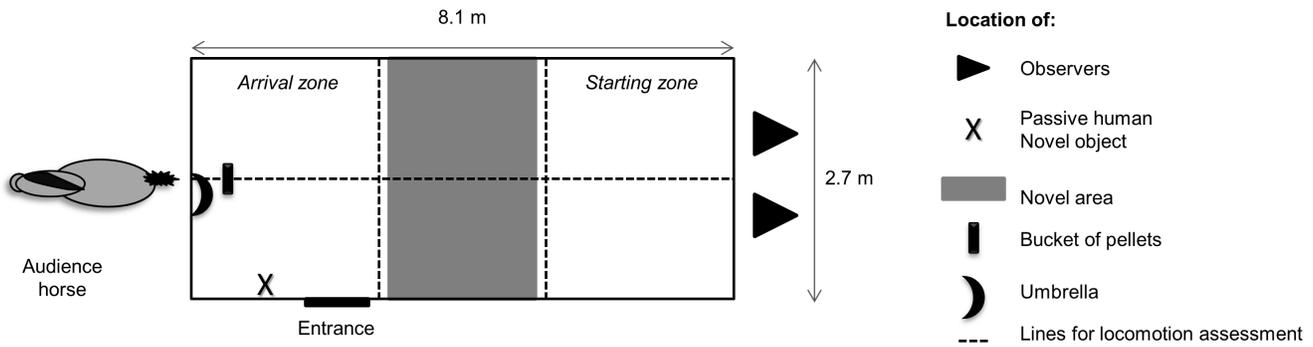


Figure 1. Schematic representation of the experimental apparatus for the temperament tests.
doi:10.1371/journal.pone.0062324.g001

during tactile sensitivity tests, novel area test, and surprise test, because the durations of these tests varied among horses).

Learning Task

Horses were trained to touch a target (traffic cone) pointed out by an experimenter using a gestural cue. The task was adapted from Williams et al. [24] and Whistance et al [25]. This task is considered an instrumental task because the horse had to perform an action (touching the cone) under the influence of reinforcement factors (positive reinforcement: food reward) when detecting a particular stimulus (a distal cue given by the experimenter). The horses faced two cones, and at each trial, they had to touch one of the two cones to obtain a food reward according to the experimenter command (a dynamic pointing toward one of the two cones). This two-choice system was chosen after preliminary tests showed that, when a single cone was used, the horse constantly touched the cone or stayed very close to it, rather than paying attention to the experimenter command.

All the horses were subjected to the learning task on day 1 (acquisition session), and again, eight days later (reacquisition session). On day 1, horses were exposed to an acute stressor immediately before acquisition (stressed before, SB group) or just after acquisition (stressed after, SA group). A third group was not exposed to any acute stressor (non-stressed, NS group) (Fig. 2).

Learning apparatus. The animals were individually maintained with two leads (1.2 m long) in a familiar box (3.5 m x 5.4 m) such that they were in front of an opened door blocked by a 1.2-m-

high wooden plank. The experimenter sat down in front of the horse. Two traffic cones (0.45 m high) separated by 0.4 m were placed on a horizontal wooden plank fixed at a height of 0.3 m above the ground. These traffic cones were placed between the horse and the experimenter such that the horse could touch the cones but not the experimenter (Fig. 3). The experimenter was the same adult woman through the learning procedures. The same audience horse as the one used during the temperament tests was placed in a box facing the box where the test was conducted. A similar wooden plank was placed in front of the opened door of the audience horse’s box and made it visible to the tested horse.

Familiarization with the learning apparatus. The horses were first familiarized with the learning apparatus and the experimenter. A 30-min long habituation session was conducted, where the horse was placed in front of the cones and was allowed to explore the experimental apparatus. An experimenter offered the horse the opportunity to eat a handful of pellets from his hand twice per session (approximately 7–10 g). Horses were familiarized with the apparatus for 3–5 sessions, until they accepted eating the pellets twice per session from the hand of the experimenter during a session. Forty-three horses met this criterion in the third session, four in the fourth session, and two in the fifth session. The number of familiarization sessions did not differ among the SB, SA, and NS groups (KW, ddl = 2, P>0.10).

Learning procedure. Each animal underwent 30 consecutive trials on day 1 (acquisition session) and 30 consecutive trials on day 8 (reacquisition session). Before each trial, the experimenter,

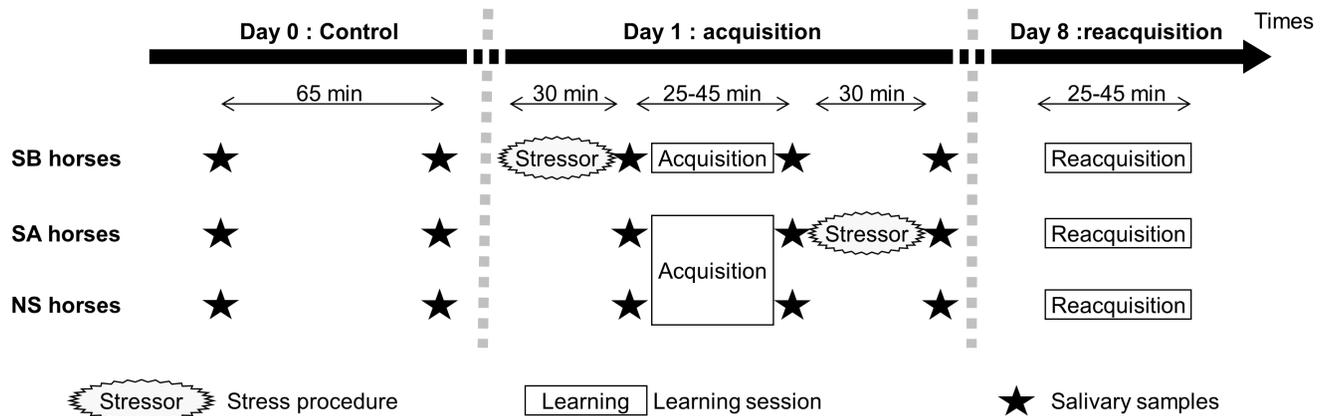


Figure 2. Schematic representation of the experimental protocol for the various groups. These are the SB group: stressed before learning acquisition, the SA group: stressed after learning acquisition, and the NS group: non-stressed.
doi:10.1371/journal.pone.0062324.g002

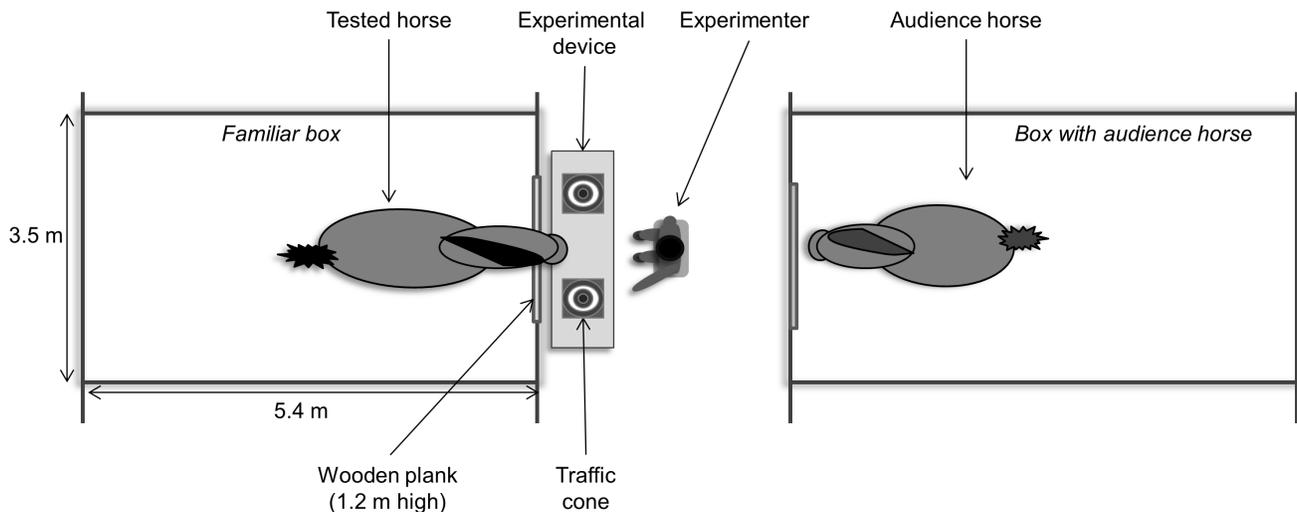


Figure 3. Schematic representation of the learning apparatus. The aim of the task was to touch the cone pointed out by the experimenter (the left or right one at random). An audience horse was placed in front of the tested horse to prevent social isolation.
doi:10.1371/journal.pone.0062324.g003

who was seated on a chair so he faced the midline of the board between the two cones, (**Fig. 3**), shook a bucket of pellets placed under his chair in order to attract the attention of the tested horse. The trial started as soon as the horse looked at the experimenter or after a maximum of three shakes. Then, the experimenter randomly indicated to one of the two cones (the rewarded cone). The aim of the task was to make the horse touch the rewarded cone by using distal indications to get a food reward. If distal indications did not work, proximal indications were used until it touched the rewarded cone and then received the food reward. Proximal indications were used to guide the horse to make the act of touching the cone, to maintain its motivation, and to equilibrate the quantity of food intake among the horses. The distal and then the proximal indications were presented successively to a horse until it touched the rewarded cone with its nose:

- Distal indications: during the distal indications, the distance between the experimenter’s fingers and the cone was between 0.5 m and 1 m. The experimenter pointed out the cone, moving his forefinger up and down (7 times in 10 s). If the horse did not touch the rewarded cone, he repeated the action with his forearm the same number of times.
- Proximal indications: during the proximal indications, the distance between the experimenter’s fingers and the cone was between 0 m and 0.03 m. The experimenter pointed out the cone by moving his entire arm up and down (7 times in 10 s). If the horse did not touch the cone, he tapped the top of the cone with his finger the same number of times.

If the horse did not touch the rewarded cone during proximal indications, the experimenter showed the food to the horse for a maximum of 30 s and tried to attract it toward the cone until it touched it. If the horse still did not touch the reward cone, the trial was ended.

The food reward was always given to the horse in the experimenter’s hand at equal distance from the two cones so the reinforcement was given independently of the side of the cone touched. Trials were separated by 10 s. For each trial, we recorded if the horse touched a cone at the time the experimenter made distal (“distal response”) or proximal indications (“proximal response”), and if this cone was the rewarded cone or not. A

“success” was defined as a distal response toward the rewarded cone. During preliminary studies, the number of successes was the only variable that increased over time in enough horses, so we chose this variable to represent learning ability.

During the 10-s inter-trial intervals, we recorded the occurrence of exploring (sniffing and nibbling) the cone, snorting, neighing, and blowing, as well as the presence or absence of alert posture in each session.

Stress Procedure

Animals from the SB and SA groups were led one by one with a halter by a second experimenter and were isolated in an unfamiliar test box (2.7 m×2.7 m), 50 m away from the stable where the learning sessions occurred. Two tarpaulins and two white sheets were hung up against the box walls. During a 30-min period, each horse was submitted to 20 unpredictable sudden events with intervals that randomly varied between 30 s and 90 s. The stressors consisted of an alternation of various stimulations randomly distributed: 6 loud sounds (e.g., dog barks, bell ringing, people talking loudly), 4 aversive sensory stimuli (water jet or air puff emitted toward the horse), 5 sudden movements (shaking of one tarpaulin or of one sheet), and 5 introductions of an unknown object (e.g. colorful cardboard box, colorful balloons). The animals were prevented from seeing the experimenters during this procedure. After this stress procedure, the horses were immediately led by the same experimenter to the learning box (SB horses) or to the home box (SA horses).

Cortisol Measurement

We assessed salivary cortisol concentration because it is a relevant and non-invasive indicator of physiological stress in horses [26–31]. On days 0 and 1, salivary samples were collected with Salivette® Cortisol (SARSTEDT France). On day 0, a day before the experiment, two control samples were collected at an interval of 65 min (**Fig. 2**). On day 1, salivary samples were collected immediately before and after, and 30 min after the acquisition session. The first control sample on day 0 was taken at the same hour as the first sample on day 1, and the second at the same hour as the last sample on day 1. Cotton buds were centrifuged at 3000 g for 20 min at 4°C, and the saliva was stored

at -20°C until analysis. Saliva was collected and cortisol was measured in 20- μl samples by using a luminescence immunoassay kit (LIA, IBL, Hamburg, Germany). The measurements were performed without replicates in a single assay. The intra-assay coefficients of variation were 4.8% and 4.1% at 1.8 ng/ml and 9.7 ng/ml, respectively. The assay sensitivity was 0.25 ng/ml. The basal cortisol level was determined by averaging the levels in the 2 saliva samples collected from each horse on day 0.

Data Analyses

Because of the lack of normality in the data, all behavioral and physiological parameters were analyzed using non-parametric tests. Results are expressed as percentages, or as median and interquartile ranges in the form “ $M=(1^{\text{st}} \text{ interquartile}-3^{\text{rd}} \text{ interquartile})$ ” in the text. Both the acquisition and reacquisition sessions were divided into three blocks of 10 trials.

Intragroup comparisons. Intragroup comparisons were made using Wilcoxon signed-rank tests for dependent samples (W) or two-tailed Friedman tests (F) followed by Wilcoxon signed-rank tests for dependent samples (W), when more than two variables were compared. Intragroup comparisons of proportions were made using the McNemar tests (McNemar).

Intergroup comparisons. Intergroup comparisons were made using two-tailed Mann-Whitney tests (MW, when two groups were compared) or two-tailed Kruskal-Wallis tests (KW, when three groups were compared) followed by Dunn tests (Dunn). Intergroup comparisons of proportions were made using 2I tests. The 2I test is derived from the chi-square test, but it allows the regrouping of experimental treatment [32,33]. Comparisons of proportions of horses expressing a certain behavior was made when this behavior was expressed by less than 20% of the horses in only one of the groups (startled reactions, snorting, and blowing during the acquisition session, and snorting and blowing during the reacquisition session). When a behavior was expressed by less than 20% of the horses in all of the compared groups, it was not analyzed (neighing during the acquisition and reacquisition sessions, startled reactions during the reacquisition session).

Correlations tests. Correlations between temperament data and learning performances were assessed using Spearman rank correlations tests. To avoid repeating these tests excessively, we chose only one global variable representing learning performance: the number of successes (distal responses toward the rewarded cone) for each entire session (acquisition or reacquisition).

Statistical analyses were performed using the statistical package XLSTAT (Addinsoft Inc., France). The level of statistical significance was set at $P \leq 0.05$, and the level of tendency at $P \leq 0.10$.

Ethics Statement

The experiments reported in this paper were conducted under a license from the French Ministry of Agriculture (no. 37–125). They only included behavioral observations and non-invasive contact with the horses that did not require the approval of an ethics committee. A minimal number of animals per group was used to statistically test differences. Neither injury nor pain was observed in the horses. The acute stressors used were inspired by real stressors often encountered by domestic animals: short-term social isolation combined with fearful events. In addition, the horses were exposed to each stressor only once, during a 30-min period. The horses belong to the experimental unit “UEPAO” of the INRA of Nouzilly. The owners gave permission for their animals to be used in this study. Horses lived in social groups and were taken to a paddock daily. During the experimental period, no food restriction was used, and during the learning task, only

positive reinforcements were used. At the end of the experiment, the animals returned to their normal breeding at the INRA unit.

Results

Cortisol Measurements

No significant difference was observed in cortisol concentrations on day 0 (control day) between the SB, SA, and NS groups (SB: Stressed Before acquisition session, SA: Stressed After acquisition session, NS: Non Stressed, KW, $K = 2.3$, $P > 0.10$, **Fig. 4**). On day 1, at the sampling realized both just before and just after the acquisition session, the SB group showed higher cortisol concentrations than the NS (Dunn, $P < 0.05$) and SA groups (Dunn, $P < 0.05$), and the NS and SA groups did not differ (Dunn, $P > 0.10$, KW, $ddl = 2$, $K_{\text{pre-acquisition}} = 10.5$, $P_{\text{pre-acquisition}} < 0.005$, $K_{\text{post-acquisition}} = 21.7$, $P_{\text{post-acquisition}} < 0.0001$). At the sampling realized 30 min after the end of the acquisition session, the cortisol concentration in the NS group was significantly lower than that in the SB (Dunn, $P < 0.05$) and SA groups (Dunn, $P < 0.05$). Concentrations in the SB and SA groups did not differ (Dunn, $P > 0.10$, KW, $ddl = 2$, $K = 16.5$, $P < 0.0001$). Overall, salivary cortisol increased from about 0.6 ng/ml to 1.15 ng/ml (= 80% increase in the SB group) or 1.0 ng/ml (= 67% increase in the SA group) just after the stressor application, which is 4–5 times the standard deviation of the assay.

Effect of Stress on Learning Performances

Irrespective of the experimental group, the number of successes (distal responses toward the rewarded cone) significantly increased from the first block of the acquisition session to the last block of the reacquisition session (W, $Z_{\text{SB}} = -3.15$, $P_{\text{SB}} < 0.01$, $Z_{\text{NS}} = -3.67$, $P_{\text{NS}} < 0.001$, $Z_{\text{SA}} = -3.18$, $P_{\text{SA}} < 0.01$).

Acquisition performances. Independently of their groups, the horses progressively learned that they had to touch a cone during distal indications. Indeed, the number of distal responses increased from the 1st to the 3rd blocks of acquisition session, in both SB and NS+SA groups (W, SB group: 1st block vs. 3rd block: $Z = -2.6$, $P < 0.01$; 1st block vs. 2nd block: $Z = -1.9$, $P < 0.05$; 2nd block vs. 3rd block: $Z = -1.6$, $P = 0.10$; NS+SA group: 1st block vs. 3rd block: $Z = -3.6$, $P < 0.001$; 1st block vs. 2nd block: $Z = -2.1$, $P < 0.05$; 2nd block vs. 3rd block: $Z = -3.6$, $P < 0.01$).

Among these distal responses, the number of successes tended to be higher in the SB group than in the NS+SA group during the 1st block of acquisition (MW, $U = 180.5$, $P = 0.09$). This higher number of successes at the beginning of the session might explain why the number of successes was constant over the blocks in the SB group (F, $ddl = 2$, $P > 0.10$), whereas it increased in the NS+SA group (W, 1st block vs. 3rd block: $Z = -3.4$, $P < 0.001$; 1st block vs. 2nd block: $Z = -2.2$, $P < 0.05$; 2nd block vs. 3rd block: $Z = -2.8$, $P < 0.01$, **Fig. 5a**). Simultaneously, the number of proximal responses toward the rewarded cone of SB group significantly decreased from the 1st to the 2nd blocks of trials (W, $Z = -2.1$, $P < 0.05$). Interestingly, the groups also differed in the number of distal responses toward the unrewarded cone. It was higher in the SB group than in the NS+SA group during the 2nd block (MW, $U = 94$, $P < 0.05$) and tended to be higher during the 3rd block of the acquisition session (MW, $U = 180$, $P = 0.09$). In addition, it significantly increased from the 1st block to the 3rd block of trials in the SB group (W, 1st block vs. 2nd block: $Z = -2.1$, $P < 0.05$; 1st block vs. 3rd block: $Z = -2.3$, $P < 0.05$), but not in the NS+SA group (F, $ddl = 2$, $P > 0.10$).

In summary, all the horses progressively learned to use distal cues to solve the task. Interestingly, SB horses tended to perform better than NS+SA horses at the beginning of the acquisition.

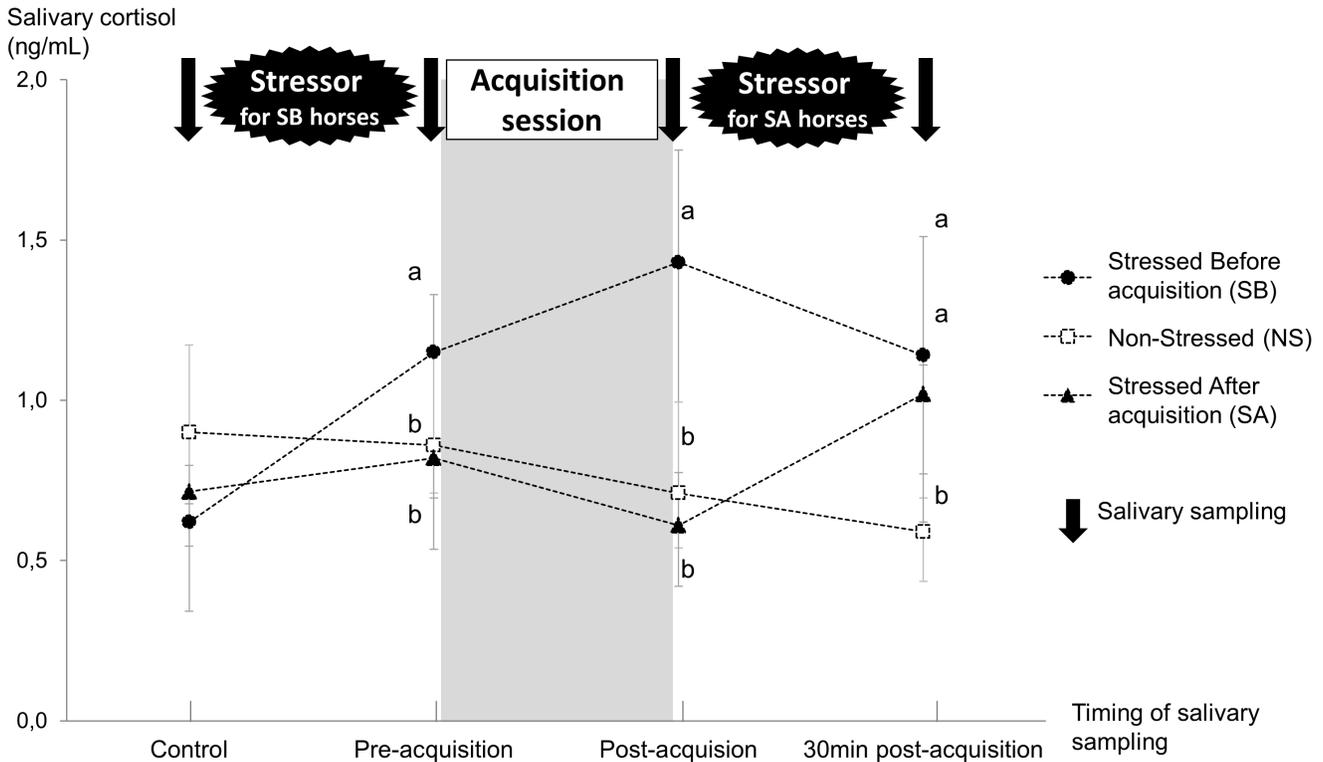


Figure 4. Concentrations of salivary cortisol across the learning task (median \pm interquartile). Cortisol concentrations (control) did not differ among the SB (stressed before acquisition session), the NS (non-stressed), and the SA horses (stressed after acquisition session). Pre-acquisition and post-acquisition cortisol concentrations were higher in the SB horses than in the SA and NS horses. Thirty minutes after the end of the acquisition session, cortisol concentrations of the SB and SA horses were significantly higher than cortisol concentration of the NS horses. Difference between groups: a vs. b, $P < 0.05$, Kruskal-Wallis test followed by Dunn tests. doi:10.1371/journal.pone.0062324.g004

Retrieval performances. In order to assess retrieval performances, the percentage of horses that succeeded in the last trial of the acquisition session was compared with the percentage that succeeded in the first trial of the reacquisition session. These percentages did not vary significantly in any of the groups (%Acquisition and %Reacquisition, McNemar, SB: 33.4%, 40.0%, $Q = 0.2$, $P > 0.10$; NS: 15.8%, 42.1%, $Q = 2.8$, $P > 0.10$; SA 20.0%, 26.7%, $Q = 0.2$, $P > 0.10$). The percentages of horses that successfully passed the first trial of the reacquisition session did not differ between the three groups of horses (2I, $ddl = 2$, $P > 0.10$).

Reacquisition performances. In order to assess the reacquisition performances, we compared the number of distal successes in the last 10 trials of the acquisition session with the number of distal successes in the first 10 trials of the reacquisition session. In the NS group, performances were significantly improved from the end of the acquisition to the beginning of the reacquisition sessions (W, $Z = -2.08$, $P < 0.05$, Fig. 6), suggesting a good reacquisition of the task. In the SB group, performances only tended to be improved (W, $Z = -1.74$, $P = 0.08$), whereas in the SA group, performances did not vary (W, $Z = -1.39$, $P > 0.10$), suggesting lack of improvement between acquisition and reacquisition sessions.

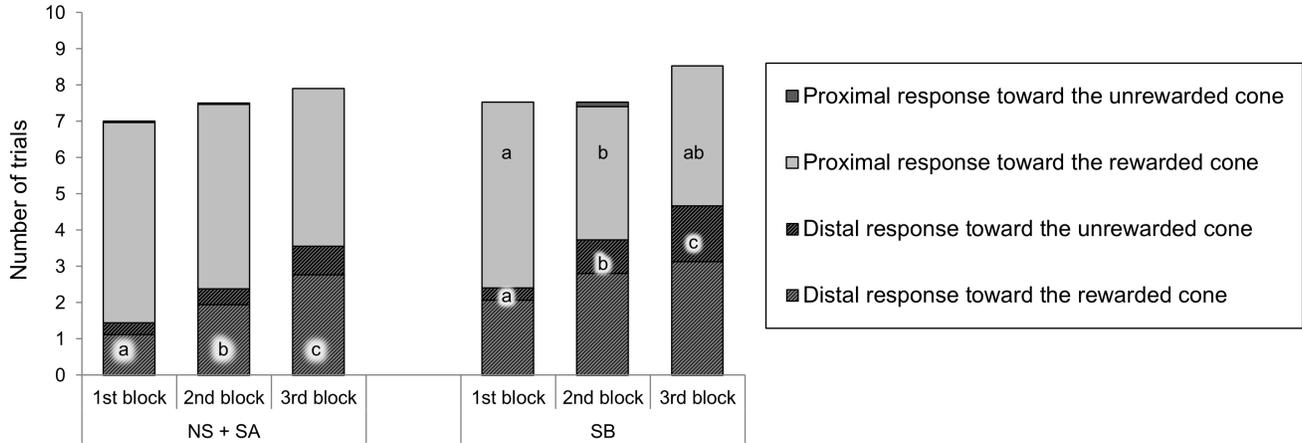
During the reacquisition session (Fig. 5b), the number of distal responses increased or tended to increase in all the groups. It increased from the 4th to the 6th block in the NS group (W, 4th block vs. 6th block: $Z = -2.7$, $P < 0.01$, 5th block vs. 6th block: $Z = -1.7$, $P = 0.09$), the SB group (W, 4th block vs. 6th block: $Z = -1.7$, $P = 0.09$, 5th block vs. 6th block: $Z = -1.7$, $P = 0.09$), and the SA group (W, 4th block vs. 6th block: $Z = -2.4$, $P < 0.05$,

4th block vs. 5th block: $Z = -1.7$, $P = 0.09$). Among these distal responses, the number of successes also significantly increased over the blocks in all the groups: from the 4th to the 6th block in both the NS group ($Z = -2.5$, $P = 0.01$) and SA group ($Z = -2.0$, $P < 0.05$), and from the 5th to the 6th block in the SB group ($Z = -2.2$, $P < 0.05$). In parallel with this increase in successful trials, the number of proximal responses toward the rewarded cone decreased in both NS and SA groups from the 4th block to the 6th block of trials (W, NS horses: 4th block vs. 6th block: $Z = -2.2$, $P < 0.05$; 5th block vs. 6th block: $Z = -1.7$, $P = 0.09$; SA horses: 4th block vs. 6th block: $Z = -1.8$, $P = 0.07$; 5th block vs. 6th block: W, $Z = -2.0$, $P < 0.05$). No difference between the three groups was observed for any type of response (KW, $ddl = 2$, $P > 0.10$).

Behaviors Recorded during Acquisition and Reacquisition Sessions

Acquisition session. During the whole acquisition session, SB group explored the cones significantly more than the NS+SA group ($M_{SB} = 3$ (1.25–4.75), $M_{NS+SA} = 1.5$ (0–4), MW, $U = 93.5$, $P < 0.05$). The percentage of horses that expressed snorting and startled reactions was significantly higher in the SB group than in the NS+SA group (Snorting: %_{SB} = 60%, %_{NS+SA} = 5.8%, 2I, $ddl = 1$, $P < 0.01$; Startled reactions: %_{SB} = 26.7%, %_{NS+SA} = 2.9%, 2I, $ddl = 1$, $P < 0.05$). However, the SB and the NS+SA groups did not differ in glancing at the experimenter ($M_{SB} = 9$ (4.75–13.5), $M_{NS+SA} = 8$ (3–13), MW, $P > 0.10$), presenting alert posture (%_{SB} = 86.7%, %_{NS+SA} = 85.9%, 2I, $ddl = 1$,

a. Acquisition session



b. Reacquisition session

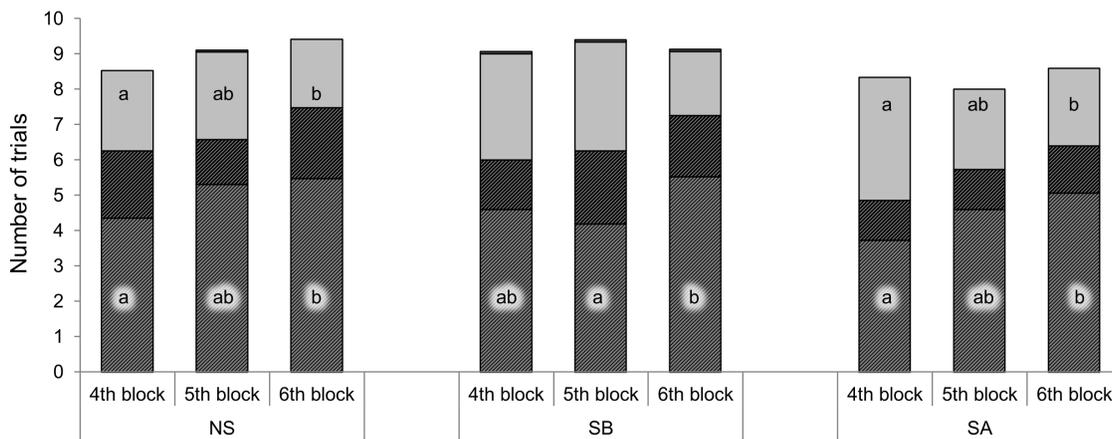


Figure 5. Distal and proximal responses displayed during acquisition and reacquisition sessions. Mean number of each type of distal and proximal responses displayed during the 1st, 2nd, and 3rd blocks of the acquisition session (a) and the 4th, 5th, and 6th blocks of the reacquisition session (b) by each group. Each block consisted of 10 trials. Intra-group differences between the blocks: a vs. b vs. c, $P < 0.05$, Wilcoxon tests. doi:10.1371/journal.pone.0062324.g005

$P > 0.10$), and blowing ($\%_{SB} = 33.3\%$, $\%_{NS+SA} = 17.6\%$, $2I$, $ddl = 1$, $P > 0.10$).

Reacquisition session. During the whole reacquisition session, the percentage of horses that exhibited an alert posture was significantly higher for the SB and SA groups than for the NS group ($\%_{SB} = 86.7\%$, $\%_{SA} = 80\%$, $\%_{NS} = 47.3\%$, $2I$, $ddl = 2$, $P < 0.01$). The SB, NS, and SA groups did not differ significantly in exploring the cones ($M_{SB} = 4$ (1.25–9), $M_{NS} = 8$ (2.25–15.75), $M_{SA} = 5$ (2–8.75), KW , $ddl = 2$, $P > 0.10$), glancing at the experimenter ($M_{SB} = 4$ (2–7), $M_{NS} = 4$ (2–6.75), $M_{SA} = 3.5$ (2–6), KW , $ddl = 2$, $P > 0.10$), snorting ($\%_{SB} = 20\%$, $\%_{NS} = 5.3\%$, $\%_{SA} = 13.3\%$, $2I$, $ddl = 2$, $P > 0.10$), or blowing ($\%_{SB} = 6\%$, $\%_{NS} = 20\%$, $\%_{SA} = 13.3\%$, $2I$, $ddl = 2$, $P > 0.10$).

Influence of Temperament on Learning Performances

Significant correlations between variables of temperament and number of successes are summarized in **Table 1**. During the acquisition session, no significant correlation was found between the number of successes and the behavioral characteristics related to temperament in the NS+SA group ($P > 0.10$). In the SB group, the number of successes in acquisition was positively and

significantly correlated with the amount of trotting measured over all the temperament tests ($P < 0.05$). During the reacquisition session, no significant correlation was found between the number of successes and the behavioral characteristics related to temperament of the NS group ($P > 0.10$). In the SB group, the number of successes during the reacquisition session tended to be positively correlated with the amount of trotting measured over all the tests ($P = 0.07$). In the SA group, it was negatively and significantly correlated with the number of startled reactions over all the tests ($P < 0.01$) and with the number of neighs during the social isolation test ($P < 0.01$), and tended to be negatively correlated with the time taken to start eating again during the surprise test ($P = 0.07$). No other variables of temperament were significantly correlated with the successes during the entire acquisition or entire reacquisition sessions ($P > 0.10$).

Discussion

The present study shows that learning performances varied according to the exposure to stressors. Horses that were stressed before acquisition (SB group) tended to perform more successes at the beginning of the acquisition session than non-stressed horses

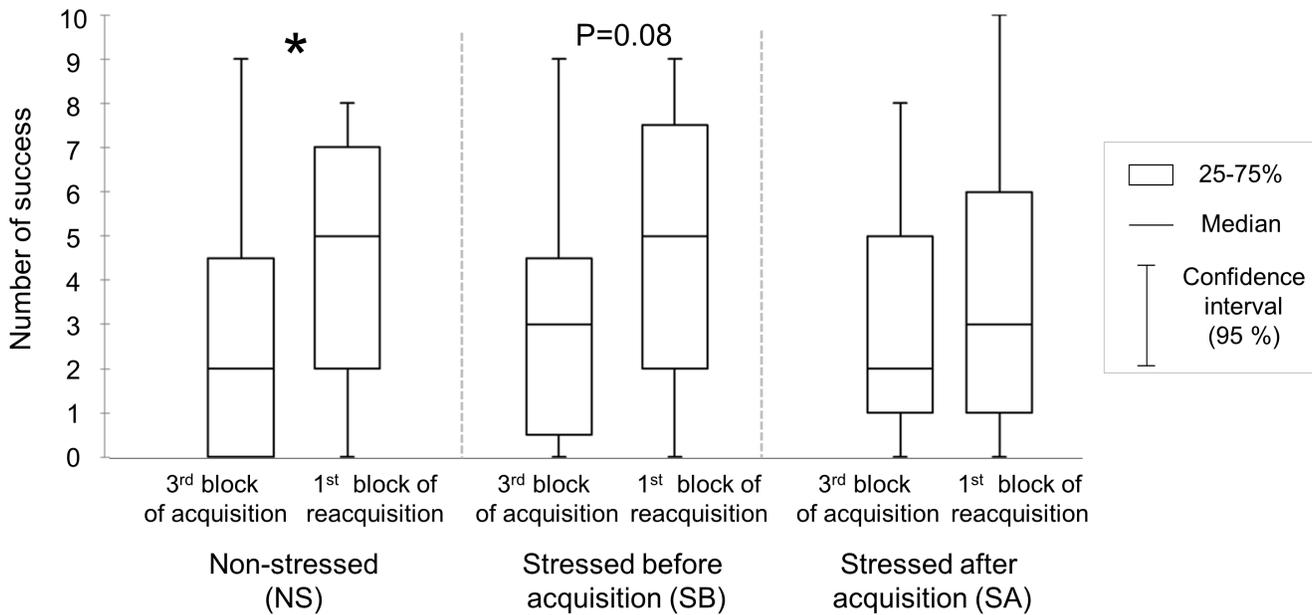


Figure 6. Distal successes at the end of acquisition session and at the beginning of reacquisition session. Boxplots of the numbers of distal successes displayed during the last 10 trials of the acquisition session and the first 10 trials of the reacquisition session. The number of distal successes tended to increase in SB horses and significantly increased in NS horses. No significant change was observed in SA horses. Wilcoxon test, * $P < 0.05$. doi:10.1371/journal.pone.0062324.g006

did (NS+SA group). Eight days later, during the reacquisition session, contrary to NS animals, SA horses, and, to a lesser extent, SB horses, did not significantly improve their performance between acquisition and reacquisition sessions. Temperament influenced learning performances, but only when acquisition or reacquisition performances were affected by stress.

Evolution of Learning Performances

In all experimental groups, the number of successes (distal responses toward the rewarded cone) increased from the first block of the acquisition session to the last block of the reacquisition session, showing that the individuals made progress. However, the number of successes remained relatively low over the blocks,

showing that the task was difficult and that not all the individuals succeeded during the task. The difficulty of the task was not affected by a lack of motivation for food, nor by a difficulty to perform the act of touching the cone since the animals responded in at least 70% of the trials from the beginning of the acquisition with proximal and distal indications. The use of distal indications was not likely a reason for the difficulty of the task since previous studies suggest that horses are spontaneously able to use distal cues to localize food [34,35]. Therefore, the difficulty of the task probably came from learning an association between distal cues, instrumental action, and reward. This finding is in accordance with McKinley and Sambrook [36], who also showed that forming an association between distal cues and an operant response (to

Table 1. Spearman correlations between temperament and the number of distal successes during acquisition and reacquisition sessions.

Temperament dimension	Temperament variable	Number of distal success				
		Acquisition session		Reacquisition session		
		SB horses	NS+SA horses	SB horses	NS horses	SA horses
Fearfulness	Number of startled response	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	$r_s = -0.74$, $P < 0.01$
	Eating latency during surprise test	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<i>$r_s = -0.50$, $P = 0.07$</i>
Gregariousness	Number of neighs during social isolation test	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	$r_s = -0.67$, $P < 0.01$
Locomotor activity	Amount of trotting	$r_s = 0.61$, $P < 0.05$	n.s.	<i>$r_s = 0.48$, $P = 0.07$</i>	n.s.	n.s.

Only variables showing a tendency (italics) or significant correlations (bold) are presented. In SB horses, the number of distal successes was significantly correlated during the acquisition session and tended to be correlated during the reacquisition session, with a temperament variable related to locomotor activity. In the SA horses, the number of distal successes during the reacquisition session was negatively correlated with temperament variables related to fearfulness and gregariousness. No significant correlation was noticed in the non-stressed horses. "n.s." indicates an absence of significant correlation ($P > 0.10$). doi:10.1371/journal.pone.0062324.t001

search for food under a reversed bucket) could not be solved spontaneously by most of the horses. This difficulty induced a huge variability of performances across individuals, leading this task well adapted for studying the factors of variability of learning performances such as stress and temperament.

Effect of Stress on Learning Performances

During the first block of acquisition session, stressed horses (SB group) tended to perform more successes with distal indications than non-stressed horses (NS+SA group), suggesting a positive effect of stress on performances. Several behavioral and physiological parameters have confirmed a state of stress in SB horses: they expressed more startled reactions and snorting, and showed higher salivary cortisol levels than the other horses. We suspect that this state of stress might have rendered the horses of the SB group more active at the beginning of the acquisition session, and thus made them more inclined to touch the cones and might explain why their performances were enhanced. This higher tendency for touching the cones might also explain the higher level of exploration of the cones between the inter-trial intervals observed in SB horses. However, the enhancement of learning performances was only temporary, since no difference was noticed during the second and third blocks of trials. Whether a longer or a deeper state of stress would be more efficient remains to be tested.

In contrast with the positive effect on acquisition performance, stress appears to impair the reacquisition processes. Indeed, SA horses did not show any significant improvement in performances from the end of the acquisition session to the beginning of the reacquisition session, unlike NS horses. The performances of SB horses only tended to increase and were then of an intermediate level. Since both SB and SA groups exhibited similar cortisol concentrations 30 min after the end of the acquisition session, these results suggest that an increased level of cortisol post-acquisition may be detrimental for further performances. This negative effect of stress cannot be attributed to an impairment of retrieval processes, since we did not find any significant variation in the number of horses that succeeded in the last trial of the acquisition session and the first trial of the reacquisition session in the SB, SA, and NS horses. Rather, we hypothesize that horses associated the stress applied before or after acquisition with the context of learning. Then, when replaced in the same context eight days later, this association might have induced a state of stress in SB and SA horses that impaired reacquisition of the task. Both SA and SB horses were more numerous than NS horses to exhibit alert postures during the reacquisition session, which are indicators of stress. This state of stress might have shifted the attention of the SA horses, and, to a lesser extent, the attention of the SB horses, from the learning task and impaired then the reacquisition performances [2,37–39]. Interestingly, the effect of stress on reacquisition performances was stronger in SA horses than in SB horses and suggests that the same stressor, inducing the same increase in cortisol concentrations, is more deleterious for further performances when it occurs after the acquisition, rather than before. Thus, the association between the stressor and the learning context might be stronger when the stressor occurred after, because, in this last case, the learning-context might predict the subsequent occurrence of the stress episode. In accordance with this view, classical Pavlovian conditioning studies demonstrated that the association between an unconditioned stimulus and a conditioned stimulus is stronger if the unconditioned stimulus occurs after the conditioned stimulus (forward conditioning) rather than before (backward conditioning) [40–42].

To sum up, during the acquisition session, the state of stress of SB horses was induced directly by the exposure to the stressor just before the task and this state of stress tended to improve performances. On the contrary, during the reacquisition session, the state of stress might have been induced by a context-stress association in the SA and SB horses, and this state of stress impaired or tended to impair reacquisition performances.

Effect of Stress on the Way to Respond

In addition to the effect of stress on performances, stress also had a significant impact on the behavior of the SB horses during the acquisition session. Indeed, stressed horses (SB) exhibited more distal responses toward the unrewarded cone than non-stressed horses (NS+SA) did. We hypothesize that the SB horses touched the unrewarded cone more because they made faster decisions during the trials, even before receiving the information necessary to correctly localize the rewarded cone. A state of stress is known to increase the speed of decision making [2,43]. For instance, Keinan et al. [44] showed that stressed humans responded faster than non-stressed humans did during a cognitive task, even before they received all the information necessary to answer correctly. We did not find this difference of distal responses toward the unrewarded cone between the SB, SA, and NS horses during the reacquisition session. This may suggest that stress induced by a context-stress association does not affect decision-making processes, unlike stress induced by direct exposure to stressors.

Temperament as an Amplifier of the Effect of Stress on Learning Performances

The influence of temperament dimensions on performances differed depending on the session, the presence of the stressor, and its timing. During the acquisition session, no correlation was found between temperament and acquisition performances in non-stressed horses. By contrast, SB horses that performed the best presented the highest level of locomotor activity (amount of trotting). Horses with an active temperament might have responded to the stressor by an increase of their locomotor activity, and this higher activity might have been maintained during the acquisition session. Consequently, they might have been more inclined to move and act during the task, and thus, to succeed. These results are in accordance with the study of Lansade and Simon showing that a high level of locomotor activity has a positive effect on acquisition performances, but only in a stressful task [45].

The same correlation was found during the reacquisition session in the SB group: the most active horses tended to perform more successes. We hypothesize that these horses tended to perform the best during the reacquisition session because of their higher performance during the previous session. On the other hand, in the SA group, the least fearful and the least gregarious horses performed more successes. These horses might have been less affected by stressors that involved social isolation and fearful events [46,47]. Consequently, their reacquisition performances might have been less affected by the negative effect of stress. This negative correlation between fearfulness and performances was found in SA horses, but not in SB horses. We hypothesize that the deleterious effect of the stress before acquisition on reacquisition performances was too mild to cause differences of performances related to the fearfulness dimension since stress before acquisition tended to impair reacquisition performances, but not to the extent that stress after acquisition did.

Like in the acquisition session, in the non-stressed group, no correlation between temperament and performances was found during the reacquisition session. Taking into account that

fearfulness impairs reacquisition performances in case of stress after acquisition, all these results suggest that stress is necessary to reveal the influence of temperament and impairs more cognitive abilities in fearful horses than in less fearful horses. The present study constitutes the first evidence that stress modulates the influence of temperament on cognitive abilities in horses.

Acknowledgments

The authors would like to thank Guy Duchamp, Fabrice Reigner, and their staff (INRA Nouzilly, France) for allowing the use of the animals and

facilities. The authors would also like to thank Aurélie Holtz, Jean-Marie Yvon, and Anne-Marie Mounier for their assistance in data collection, and Laura Szymanski for having checked the quality of the English language of our manuscript.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: MV FL CM LL. Performed the experiments: MV CM. Analyzed the data: MV LL. Contributed reagents/materials/analysis tools: AP LC. Wrote the paper: MV FL AP LC LL.

References

- Sandi C, Pinelo-Nava MT (2007) Stress and Memory: Behavioral Effects and Neurobiological Mechanisms. *Neural Plast* 78970.
- Mendl M (1999) Performing under pressure: stress and cognitive function. *Appl Anim Behav Sci* 65: 221–244.
- Joëls M, Pu Z, Wiegert O, Oitzl MS, Krugers HJ (2006) Learning under stress: how does it work? *Trends Cogn Sci* 10: 152–158.
- Schwabe L, Wolf OT, Oitzl MS (2010) Memory formation under stress: Quantity and quality. *Neurosci Biobehav Rev* 34: 584–591.
- Nicol CJ (2002) Equine learning: progress and suggestions for future research. *Appl Anim Behav Sci* 78: 193–208.
- Jiao XL, Pang KCH, Beck KD, Minor TR, Servatius RJ (2011) Avoidance perseveration during extinction training in Wistar-Kyoto rats: An interaction of innate vulnerability and stressor intensity. *Behav Brain Res* 221: 98–107.
- Goldsmith HH, Buss AH, Plomin R, Rothbart MK, Thomas A, et al. (1987) Round table - what is temperament 4 approaches. *Child Development* 58: 505–529.
- Bates JE (1989) Concepts and measures of temperament. In: Kohnstamm GA, Bates JE, Rothbart MK, editors. *Temperament in Childhood*. New York: Wiley. 3–26.
- Lansade L, Bouissou MF (2008) Reactivity to humans: A temperament trait of horses which is stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 114: 492–508.
- Lansade L, Bouissou MF, Erhard HW (2008) Fearfulness in horses: A temperament trait stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 115: 182–200.
- Lansade L, Bouissou MF, Erhard HW (2008) Reactivity to isolation and association with conspecifics: A temperament trait stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 109: 355–373.
- Lansade L, Pichard G, Leconte M (2008) Sensory sensitivities: Components of a horse's temperament dimension. *Appl Anim Behav Sci* 114: 534–553.
- Cazakoff BN, Johnson KJ, Howland JG (2010) Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents: A review of recent behavioural and pharmacological findings. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 34: 733–741.
- Zoladz PR, Clark B, Warnecke A, Smith L, Tabar J, et al. (2011) Pre-learning stress differentially affects long-term memory for emotional words, depending on temporal proximity to the learning experience. *Physiol Behav* 103: 467–476.
- Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Woodson JC, Conrad CD, et al. (2006) Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16: 571–576.
- Park CR, Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, Diamond DM (2008) Acute predator stress impairs the consolidation and retrieval of hippocampus-dependent memory in male and female rats. *Learn Mem* 15: 271–280.
- Youngblood BD, Ryan DH, Harris RBS (1997) Appetitive operant behavior and free-feeding in rats exposed to acute stress. *Physiol Behav* 62: 827–830.
- Janitzky K, Schwegler H, Kröber A, Roskoden T, Yanagawa Y, et al. (2011) Species-relevant inescapable stress differentially influences memory consolidation and retrieval of mice in a spatial radial arm maze. *Behav Brain Res* 219: 142–148.
- Kaouane N, Porte Y, Vallee M, Brayda-Bruno L, Mons N, et al. (2012) Glucocorticoids Can Induce PTSD-Like Memory Impairments in Mice. *Science* 335: 1510–1513.
- Wolff A, Hausberger M, LeScolan N (1997) Experimental tests to assess emotionality in horses. *Behav Process* 40: 209–221.
- LeScolan N, Hausberger M, Wolff A (1997) Stability over situations in temperamental traits of horses as revealed by experimental and scoring approaches. *Behav Process* 41: 257–266.
- Visser EK, Van Reenen CG, Rundgren M, Zetterqvist M, Morgan K, et al. (2003) Responses of horses in behavioural tests correlate with temperament assessed by riders. *Equine Vet J* 35: 176–183.
- McDonnell SM, Poulin A (2002) Equid play ethogram. *Appl Anim Behav Sci* 78: 263–290.
- Williams JL, Friend TH, Nevill CH, Archer G (2004) The efficacy of a secondary reinforcer (clicker) during acquisition and extinction of an operant task in horses. *Appl Anim Behav Sci* 88: 331–341.
- Whistance LK, Sinclair LA, Arney DR, Phillips CJC (2009) Trainability of eliminative behaviour in dairy heifers using a secondary reinforcer. *Appl Anim Behav Sci* 117: 128–136.
- Peeters M, Sulon J, Beckers JF, Ledoux D, Vandenheede M (2011) Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotropic hormone challenge. *Equine Vet J* 43: 487–493.
- Harewood EJ, McGowan CM (2005) Behavioral and physiological responses to stabling in naive horses. *J Equine Vet Sci* 25: 164–170.
- Moons CPH, Laughlin K, Zanella AJ (2005) Effects of short-term maternal separations on weaning stress in foals. *Appl Anim Behav Sci* 91: 321–335.
- Jongman EG, Bidstrup I, Hensworth PH (2005) Behavioural and physiological measures of welfare of pregnant mares fitted with a novel urine collection device. *Appl Anim Behav Sci* 93: 147–163.
- Schmidt A, Mostl E, Wehnert C, Aurich J, Müller J, et al. (2010) Cortisol release and heart rate variability in horses during road transport. *Horm Behav* 57: 209–215.
- Schmidt A, Biau S, Mostl E, Becker-Birck M, Morillon B, et al. (2010) Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domest Anim Endocrinol* 38: 179–189.
- Hay M, Rue J, Sansac C, Brunel G, Prunier A (2004) Long-term detrimental effects of tooth clipping or grinding in piglets: a histological approach. *Anim Welf* 13: 27–32.
- Arbonnier P. L'analyse de l'information: aperçu théorique et application à la loi multinomiale. In: Forestières AdS, editor; 1966. 950–1020.
- Maros K, Gacsi M, Miklósi A (2008) Comprehension of human pointing gestures in horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 11: 457–466.
- Proops L, Walton M, McComb K (2010) The use of human-given cues by domestic horses, *Equus caballus*, during an object choice task. *Anim Behav* 79: 1205–1209.
- McKinley J, Sambrook TD (2000) Use of human-given cues by domestic dogs (*Canis familiaris*) and horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 3: 13–22.
- 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: 326–336.
- Parasuraman R (1984) Sustained attention in detection and discrimination. In: Parasuraman R, Davis DR, editors. *Varieties of Attention*. New York: Academic Press. 243–271.
- Dukas R, Clark CW (1995) Sustained vigilance and animal performance. *Anim Behav* 49: 1259–1267.
- Pierce WD, Cheney CD (2004) *Behavior Analysis and Learning*. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates. 529 p.
- Barnet RC, Miller RR (1996) Second-order excitation mediated by a backward conditioned inhibitor. *J Exp Psychol Anim B* 22: 279–296.
- Heth CD (1976) Simultaneous and backward fear conditioning as a function of number of CS-UCS pairings. *J Exp Psychol Anim B* 2: 117–129.
- van den Bos R, Harteveld M, Stoop H (2009) Stress and decision-making in humans: Performance is related to cortisol reactivity, albeit differently in men and women. *Psychoneuroendo* 34: 1449–1458.
- Keinan G (1987) Decision making under stress: scanning of alternatives under controllable and uncontrollable threats. *J Pers Soc Psychol* 52: 639–644.
- Lansade L, Simon F (2010) Horses' learning performances are under the influence of several temperamental dimensions. *Appl Anim Behav Sci* 125: 30–37.
- Coutellier L, Friedrich AC, Failing K, Marashi V, Wurbel H (2008) Effects of rat odour and shelter on maternal behaviour in C57BL/6 dams and on fear and stress responses in their adult offspring. *Physiol Behav* 94: 393–404.
- Faure JM, Val-Laillet D, Guy G, Bernadet M-D, Guéméné D (2003) Fear and stress reactions in two species of duck and their hybrid. *Horm Behav* 43: 568–572.

F. Discussion et conclusion du chapitre 2

Les deux études de ce chapitre ont permis de confirmer notre hypothèse selon laquelle les relations entre tempérament et performances cognitives peuvent être modulées par l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques.

Dans l'**article 2**, nous avons observé que les performances de mémoire de travail étaient positivement corrélées avec la dimension de peur en l'absence de stress extrinsèques, alors qu'elles étaient négativement corrélées avec la dimension de peur en conditions stressantes. Nous pensons que ces résultats peuvent être expliqués par une relation en « U » inversé décrivant la relation théorique entre intensité du stress et performance cognitive (Baldi et Bucherelli 2005) (**figure 6**). En effet, si l'on considère qu'un cheval au tempérament peureux réagit plus fortement au stress qu'un cheval au tempérament non peureux, on peut penser qu'en l'absence de stress extrinsèque, l'état de stress des individus serait plutôt bénéfique pour les performances, et ce a fortiori chez les chevaux au tempérament peureux (première partie de la courbe, **figure 6**). Au contraire, lorsqu'on expose les individus à des facteurs de stress extrinsèques, l'état de stress des chevaux deviendrait globalement délétère pour les performances de mémoire de travail, conformément à ce qui a été observé, et ce d'autant plus pour les individus au tempérament peureux (deuxième partie de la courbe, **figure 6**).

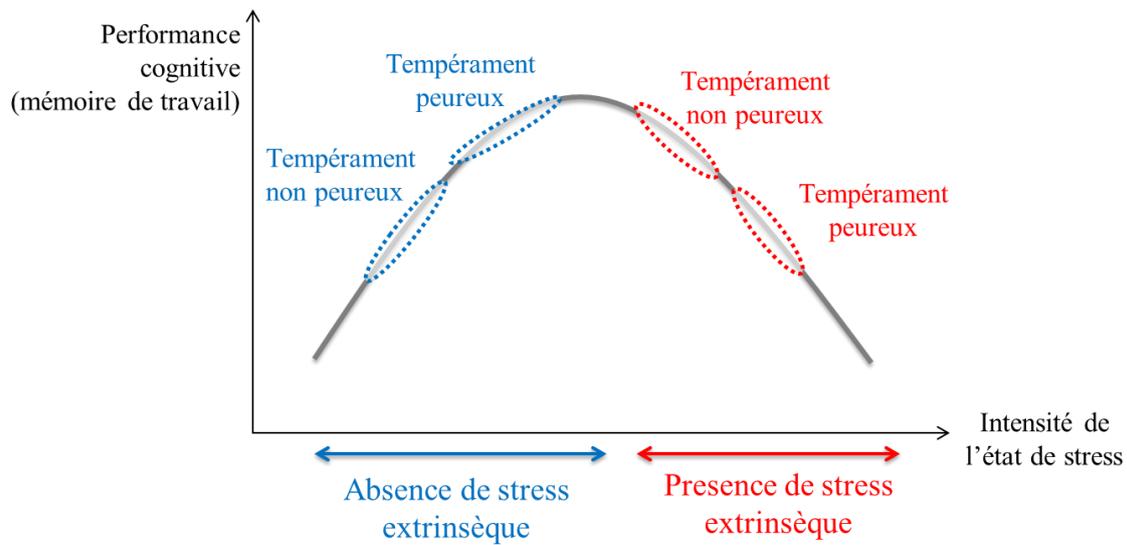


Figure 6. Courbe en « U » inversé décrivant les relations théoriques entre performance cognitive (ici performance de mémoire de travail) et intensité de l'état de stress. Les résultats obtenus dans l'article 2 pourraient être expliqués par cette relation.

Dans l'article 3, nous avons tout d'abord observé un effet globalement délétère du stress extrinsèque sur les performances de réacquisition des chevaux, en particulier lorsque l'épisode de stress survenait au moment où les processus de consolidation étaient a priori prédominants. Les résultats de cet article suggèrent également une modulation par le stress des relations entre tempérament et performances d'apprentissage. En effet, en l'absence de stress extrinsèques, aucune corrélation n'était observée. Au contraire, en conditions stressantes, lorsqu'un état de stress intervenait au moment où les processus de consolidation étaient théoriquement prédominants, nous avons observé que les performances au jour 8 étaient négativement corrélées avec la dimension de peur et la dimension de grégarité. Ce dernier résultat suggère que l'effet délétère du stress serait plus marqué chez les individus peureux et grégaires.

Par ailleurs, toujours en conditions stressantes, nous avons observé que lorsqu'un état de stress intervenait au moment où les processus d'acquisition étaient théoriquement prédominants, les performances d'apprentissage au jour 1 et au jour 8 étaient positivement corrélées avec la dimension d'activité locomotrice. Des effets positifs similaires de l'activité locomotrice ont déjà été observés dans d'autres études (souris : Teskey et al. 1998; cheval : Lansade et Simon 2010). Cet effet bénéfique de l'activité locomotrice pourrait s'expliquer par

une tendance plus large à être actif, à agir et donc à augmenter la probabilité d'exprimer la réponse attendue (Carere et Locurto 2011).

Le fait que la dimension de peur ne semblait pas reliée aux performances d'apprentissage en cas d'exposition au stress avant acquisition pourrait être due au fait que cette exposition au stress n'a pas eu une influence forte sur les performances moyennes des chevaux. Notamment, l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques avant acquisition n'a eu qu'un effet transitoire lors de la session d'acquisition, les chevaux stressés ayant tendance à présenter un niveau d'activité plus élevé que les chevaux témoins lors des premiers essais. D'un point de vue chronologique, cette expérience (article 3) a été menée avant les autres expériences portant sur l'influence du stress (articles 2 et 4). C'est au regard de cet effet transitoire de l'épisode de stress avant acquisition que nous avons décidé par la suite d'induire des états de stress pendant les tâches cognitives par le biais d'expositions, brèves et répétées, aux facteurs de stress entre les essais (articles 2 et 4), plutôt que par le biais d'une exposition unique d'une plus longue durée.

En conclusion, les études composant ce chapitre nous ont montré que (1) l'exposition à des stress extrinsèques a un effet plutôt délétère pour les performances de mémoire de travail et d'apprentissage en général, et que (2) cette exposition à un stress extrinsèque peut moduler les relations entre tempérament et performances cognitives. Un certain nombre de corrélations observées entre tempérament et performances en cas de stress extrinsèques pourrait être expliqué par un effet délétère du stress plus marqué chez certains individus, en particulier chez les individus au tempérament peureux. Nos résultats suggèrent également que la peur peut n'avoir aucun effet, voire même un effet bénéfique pour les performances en l'absence de facteurs de stress extrinsèques.

CHAPITRE 3 : Relations entre tempérament et performances cognitives en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques et/ou intrinsèques

A. Objectifs

Le chapitre précédent nous a permis de caractériser l'impact de stress extrinsèques sur les performances de mémoire de travail et d'apprentissage, et sur leurs relations avec le tempérament des individus. L'objectif de ce troisième chapitre est d'intégrer également l'impact de facteurs de stress intrinsèques dans l'étude de la problématique. Dans l'**article 4**, nous avons donc testé à la fois l'effet de stress extrinsèques et l'effet de stress intrinsèques sur les relations entre tempérament et performances d'apprentissage instrumental. Les stress extrinsèques consistaient à des expositions à des facteurs de stress répétées au cours des sessions de tests, comme dans la condition stressante de l'article 2 présenté dans le chapitre précédent. Les stress intrinsèques consistaient à utiliser des renforcements négatifs dans le cadre de l'apprentissage instrumental. Nous avons fait ce choix car, par définition, un stress intrinsèque doit être induit par une composante directement reliée à la tâche cognitive (Sandi et Pinelo-Nava 2007; ex. Akirav et al. 2001).

Dans la littérature, il a été décrit que l'effet d'un stress sur les performances cognitives peut varier en fonction de sa source, extrinsèque ou intrinsèque par rapport à la tâche cognitive (Sandi et Pinelo-Nava 2007). En général, un stress intrinsèque aurait un effet davantage bénéfique pour les performances cognitives qu'un stress extrinsèque. L'effet a priori positif d'un stress intrinsèque pourrait s'expliquer par le fait qu'une réponse au stress peut s'accompagner d'un rétrécissement et d'une réorientation des processus attentionnels, motivationnels et/ou mnésiques envers les éléments qui semblent liés au stress (du point de vue de l'individu) et au détriment des éléments périphériques (Arnsten 1998). Cette réorganisation peut être bénéfique dans le cas où le stress provient directement de la tâche. Ainsi, l'attention de l'individu peut être augmentée vers la tâche, car le focus attentionnel se recentrerait vers les éléments liés au stress, et cela pourrait le rendre moins sensible aux perturbations extérieures. De même, la motivation nécessaire à l'apprentissage peut être accrue par le fait qu'elle se confond avec la motivation ressentie par le sujet pour se soustraire au stress en cas de stress intrinsèque. Ces phénomènes expliqueraient pourquoi les stress intrinsèques sont généralement considérés comme étant d'avantage bénéfique pour les performances cognitives que les stress extrinsèques (Sandi et Pinelo-Nava 2007).

Chez le cheval, l'étude de Lansade et Simon (2010) qui a été détaillée précédemment suggère que l'influence du tempérament sur les performances d'acquisition pourrait dépendre de la

présence ou non de stress intrinsèque. En effet, l'utilisation des jets d'air dans la tâche d'évitement actif peut constituer une forme de stress intrinsèque et les auteurs avaient justement observé que l'influence du tempérament variait entre les deux tâches. En particulier, la peur avait un effet délétère sur l'acquisition de la tâche du reculer (ne présentant a priori pas de facteurs de stress intrinsèques) et un effet bénéfique sur l'acquisition de l'évitement actif. On peut supposer que les facteurs de stress intrinsèques (utilisation de jets d'air) dans le cas de l'acquisition de l'évitement actif ont pu induire chez les chevaux peureux une plus grande focalisation de leur attention vers la tâche et une plus grande motivation à éviter l'émission de ces stimuli, par rapport aux chevaux moins peureux. Cependant, cette étude n'avait pas été conçue dans le but de comparer directement les deux tâches entre-elles en terme d'absence ou de présence de facteurs de stress intrinsèques, et ne permet donc pas de trancher sur cet éventuel effet. En dehors de ces différences de renforcements, les tâches différaient en effet par plusieurs points, comme les types de commande utilisée et de comportement à exprimer par l'animal pour répondre correctement. L'étude qui compose ce chapitre a pour objectif de déterminer si les effets opposés de la dimension de peur sur les performances d'apprentissage observés dans l'étude de Lansade and Simon (2010) pourraient effectivement être liés à la présence ou non de stress intrinsèques.

B. Hypothèses

Au regard des résultats de l'étude de Lansade et Simon (2010) et de nos précédents résultats qui suggèrent que l'effet du stress pourrait être généralement plus marqué chez les individus peureux, nous avons donc fait l'hypothèse qu'en cas d'exposition à des facteurs de stress intrinsèques, nous observerions une corrélation positive entre la dimension de peur et les performances d'apprentissage : les individus peureux seraient plus sensibles à l'effet potentiellement positif du stress intrinsèque sur les performances d'apprentissage. Au contraire, en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques, nous devrions retrouver une absence de corrélation ou une corrélation négative entre la peur et les performances d'apprentissage. Lors de la combinaison des deux types de stress, nous n'avions pas d'hypothèse a priori sur la nature de cette relation.

C. Méthodologie générale

Nous avons utilisé deux tâches d'apprentissage instrumental ne différant que par le type de renforcement utilisé, soit positif (récompense alimentaire), soit négatif (stimulations aversives

constituant des facteurs de stress intrinsèques). Afin que l'exposition à des stress extrinsèques sur les performances d'apprentissage soit comparable entre les tâches, il a fallu s'assurer que le niveau moyen de performances des animaux était équivalent en l'absence de stress extrinsèque entre les deux types de renforcements (positifs *vs.* négatifs).

La tâche consistait pour le cheval à apprendre à se déplacer dans l'un des deux compartiments, situés de part et d'autre de son point de départ, lorsqu'il recevait un signal visuel (une commande gestuelle) donné par un expérimentateur et qui consistait à pointer du doigt le compartiment en question, choisi aléatoirement à chaque nouvel essai. Au fil de l'apprentissage, la tâche était rendue de plus en plus complexe par l'utilisation de gestes de plus en plus discrets de la part de l'expérimentateur. Cette tâche diffère des tâches instrumentales précédemment utilisées (tâches du « reculer », de « l'évitement actif » et du « toucher un objet ») car lors d'expériences préliminaires, nous n'avons pas réussi à adapter l'une de ces précédentes tâches de telle sorte qu'elle puisse être utilisée aussi bien avec des renforcements positifs que négatifs et de telle sorte que les performances moyennes des individus ne diffèrent pas selon l'utilisation de renforcements négatifs ou positifs en l'absence de stress extrinsèque.

La moitié des chevaux étaient soumis en plus à de courtes expositions à des stress extrinsèques avant les sessions d'apprentissage et de manière répétée pendant ces sessions. Les procédures de stress étaient identiques à celles utilisées dans le cadre de l'**article 2**.

Au final, quatre groupes de 15 chevaux ont été formés :

- **Lot PR / NS** : chevaux soumis à l'apprentissage d'une tâche basée sur l'utilisation de renforcements positifs ("PR") en conditions non-stressantes ("NS").
- **Lot PR / S** : chevaux soumis à l'apprentissage d'une tâche basée sur l'utilisation de renforcements positifs ("PR") en conditions stressantes ("S").
- **Lot NR / NS** : chevaux soumis à l'apprentissage d'une tâche basée sur l'utilisation de renforcements négatifs ("NR") en conditions non-stressantes ("NS").
- **Lot NR / S** : chevaux soumis à l'apprentissage d'une tâche basée sur l'utilisation de renforcements négatifs ("NR") en conditions stressantes ("S").

D. Article 4

Valenchon, M., Lévy, F. & Lansade, L. *En préparation*. Influence of temperament on instrumental learning performances according to reinforcement used and stress level in horses, *Equus caballus*. Applied Animal Behaviour Science.

Effect of stress and temperament on instrumental conditioning based either on positive or negative reinforcement in horses

Mathilde Valençon, Frédéric Lévy, Léa Lansade

INRA, Centre Val de Loire, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

CNRS, UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France

IFCE, F-37380 Nouzilly, France

Abstract

The present study investigated how temperament affects instrumental learning performances in horses according to the exposure to either extrinsic stressors (independent from the learning task) or intrinsic stressors (related to the learning task, *e.g.* use of negative reinforcement). Sixty horses were used in this study and were divided into four experimental groups (N = 15) according to the treatments assigned. The treatment involved combinations of reinforcements administered during instrumental task (positive vs. negative/intrinsic stressors) and exposure to extrinsic stressors (exposed vs. not exposed to acute extrinsic stressors prior testing). The instrumental task consisted in entering into one of the two compartments at the appearance of a visual signal given by an experimenter. Results showed that horses' performances did not differ according to the use of negative and positive reinforcements without exposure to extrinsic stressors. Learning performances were impaired by exposure to acute extrinsic stress, with a stronger impairment when using positive reinforcement. Finally, learning performances were differently related to temperament according to the source of stress. Dimension of fearfulness appeared to have a positive effect on learning performances when exposed to intrinsic stressors only (negative reinforcement) and a negative effect on learning performances when exposed to extrinsic factors. Interestingly, the strongest relationships between temperament and performances were observed when both extrinsic and intrinsic (negative reinforcement) stressors were applied, with the most fearful horses being the worst performers. Therefore, this study contributed to the understanding of the relationships between temperament and learning performances by showing that this temperament influence on learning might be specific to the presence and the source of stress.

Keywords: extrinsic stress, intrinsic stress, operant, personality, fearfulness, locomotor activity, memory

1. Introduction

Variability of learning performances among individuals is a common phenomenon observed in a large number of studies and that can be related to differences of temperament or personality as reviewed by Carere and Locurto (2011), Reale et al. (2007) and Sih and Del Giudice (2012). Fearfulness and related traits are probably the most studied temperamental traits (Gosling et John 1999) and various studies aimed to test their influence on learning performances. Fearful individuals can be either the worst performers (horses, instrumental task: Lansade et Simon 2010; Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997; ravens, instrumental task of discrimination: Range et al. 2006; rooks, instrumental cooperative task: Scheid et Noë 2010) or the best performers in cognitive tasks (passive avoidance in quails: Richard et al. 2000; active avoidance in guppies: Budaev et Zhuikov 1998; and in horses: Lansade et Simon 2010). The stress level induced by the cognitive tasks themselves could account for these discrepancies.

Indeed, among these studies, some are based on positive reinforcement and others on negative reinforcements (e.g. active and passive avoidance). The use of negative reinforcements can be considered as intrinsic stressors. Intrinsic stressors refer to the stressful elements related to a cognitive task (Sandi et Pinelo-Nava 2007). Except in case of very high intensity stressors (e.g. Selden et al. 1990), intrinsic stress can facilitate learning performances by focusing mnemonic and attention processes toward the cognitive task (Mendl 1999; e.g. Akirav et al. 2001). Since the most fearful animals are predisposed to exhibit higher state of stress than less fearful animals (e.g. Scheid et Noë 2010; synthèses : Cockrem 2007; Cockrem 2013), the positive effect of intrinsic stressor on performances might be higher in fearful individuals and might explain why they can be the best performers in tasks based on negative reinforcements (e.g. Richard et al. 2000; Budaev et Zhuikov 1998; Lansade et Simon 2010), unlike in the tasks based on positive reinforcement (e.g. Lansade et Simon 2010; Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997; Range et al. 2006; Scheid et Noë 2010).

In addition, several studies suggest that the exposure to extrinsic stressors (*i.e.* independent from the cognitive task) may also modulate the influence of temperament on cognitive performances. For instance, a study conducted in humans showed that under non-stressful conditions, students with a highly anxious temperament were the best performers in a working memory task, but also the worst performers when extrinsic stressors were added (Sorg et Whitney 1992). In horses, both the studies of Christensen et al. and Valençon et al. showed

that temperament might have no effect on learning performances in the absence of extrinsic stressors, but that fearfulness had a deleterious effect on performances with exposure to extrinsic stressors in tasks based on positive (Valenchon et al. 2013) or negative reinforcements (Christensen et al. 2012). These results suggest that exposure to extrinsic stressors might modulate the influence of temperament on cognitive performances, and particularly, might induce an impairment of performances in the most fearful individuals. Therefore, stress might be a key factor for the understanding of the relationships between temperament and learning performances. Intrinsic stress may favour fearful animals, whereas extrinsic stress may disadvantage fearful ones. However, no study clearly tests this hypothesis by comparing the influence of both extrinsic and intrinsic stressors on the relationships between temperament and learning performances.

The present study aimed to investigate the influences of both extrinsic and intrinsic stressors on the relationships between temperament and learning performances in horses. Horses were chosen because a multidimensional model of temperament has been well characterized, with five dimensions found to be stable over time and across situations: fearfulness, gregariousness, reactivity to humans, level of locomotor activity, and tactile sensitivity (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c). In addition, a better knowledge of the influence of both temperament and stress on cognition is of prime interest, since this species is often subjected to cognitive challenges and stressors in both feral and domestic conditions. Particularly, conducting studies comparing tasks based on positive or negative reinforcements (intrinsic stressor) is interesting from an applied point of view since most of the studies investigating learning abilities in horses have been conducted by using instrumental tasks based on positive reinforcement, usually food reward (e.g. Ahrendt et al. 2012; Gabor et Gerken 2012; Lindberg et al. 1999; Hausberger et al. 2007; Wolff et Hausberger 1996), whereas traditional training of horses is often based on negative reinforcement (Murphy et Arkins 2007; Nicol 2002).

In the present study, horses were submitted to an instrumental task based either on positive or negative reinforcements (intrinsic stressors). In addition, half of them were exposed to acute extrinsic stressors just before learning (exposure to novel and sudden stimuli). For this, we developed an instrumental task that could be based either on positive or negative reinforcements (intrinsic stressor), and where performances do not differ according to the reinforcement used, in case of absence of extrinsic stressors. This is a necessary condition for then comparing the influence of extrinsic stress on learning performances and their

relationships with temperament between positive and negative (intrinsic stressor) reinforcements. Thus, we will determine whether the influence of extrinsic-stress exposure prior testing will differ according to the type of reinforcement used. Finally we wonder which temperamental dimensions will be related with high learning performances according to the presence or not of extrinsic and/or intrinsic stressors. Especially, we hypothesize that fearfulness might have a positive effect in case of intrinsic stress and negative effect in case of extrinsic stress. We have no hypothesis on the influence of temperament when both stressors will be applied.

2. Animals, materials and methods

2.2. Animals

Subjects were 60 female Welsh horses aged 9 (5-12) years (median \pm 1st and 3rd interquartile), bred at National Institute for Agronomic Research (INRA) of Nouzilly, France, and accustomed to being handled (regularly haltered and tethered). Before the experiment, the animals lived together outside in summer and inside in winter. During the experiment, they were housed in adjacent boxes straw bedding (6 m \times 4 m) in random groups of three, and spent 4 h per day in a large outdoor paddock. They received concentrated food (pellets) in the evening, and hay and water were available ad libitum.

Horses were divided in four groups of 15 horses:

- *PR / NS group*: horses were submitted to a task based on positive reinforcements (“PR”) under non-stressful conditions (without extrinsic stressor, “NS”).
- *PR / S group*: horses were submitted to a task based on positive reinforcements (“PR”) under stressful conditions (with extrinsic stressors, “S”).
- *NR / NS group*: horses were submitted to a task based on negative reinforcements (“NR”) under non-stressful conditions (without extrinsic stressor, “NS”).
- *NR / S group*: horses were submitted to a task based on negative reinforcements (“NR”) under stressful conditions (with extrinsic stressors, “S”).

2.3. Temperament tests

The first day of the experiment, we assessed the temperament of each horse by submitted them to a series of behavioural tests assessing the 5 independent dimensions previously shown to be stable across situations and over time: fearfulness (Lansade et al. 2008a), gregariousness (Lansade et al. 2008b), reactivity to humans (Lansade et Bouissou 2008), level of locomotor activity (Lansade 2005), and tactile sensitivity (Lansade et al. 2008c).

Experimental procedure

Tests were conducted in a box (2.7 m × 8.1 m). Two observers were hidden behind a one-way mirror (**Fig. 1**). Six behavioural tests were conducted for a total testing period of approximately 30 min per horse. During these tests, parameters proven to be reliable indicators for each temperament dimension were recorded. An audience horse, chosen for its quietness, was tied up outside the box in order to be visible by the tested horse and to avoid a social isolation context.

After a familiarization phase during which the horse was allowed to become accustomed to the box for 360 s, the tests were conducted in the following order:

(1) Passive human test (reactivity to humans): The experimenter entered the loose box and stayed motionless for 180 s. The number of contacts (sniffing or nibbling the experimenter) was recorded. Both sniffing and nibbling are exploratory behaviours. Sniffing refers to the behaviour where the horse's nose touches or is near a target of interest (from a few centimeters) and the horse is drawing air in through nostrils (McDonnell 2003b). Each opening of the nostril was considered as a behavioural item. Nibbling refers to the behaviour where the horse's jaws are closed and moved upward and downward against a support (McDonnell et Poulin 2002). Each up-and-down movement was considered as a behavioural item.

(2) Tactile sensitivity tests: One experimenter held the horse securely by a halter, and a second experimenter applied von Frey filaments (Stoelting, IL, USA) to the base of the horse's withers. These filaments consist of a hard plastic body connected to a nylon thread calibrated to exert a specific force on the skin. The filament was applied perpendicularly on the animal's skin until the nylon filament started to bend. The response was coded in binary form (trembling/not trembling) according to the reaction of the platysma muscle to the application of the filament. In the first part of the test, we applied a 0.008-g filament to the

right side of the horse and a 300-g filament to its left side. The same procedure was repeated after the novel area test, except that we applied filaments of 0.02 g and 1 g to the right and left sides, respectively. The number of times the horse reacted to the filaments was recorded.

(3) Novel object test (fearfulness): This test assessed reactivity to novelty, which is a trait underlying the dimension of fearfulness. An object unfamiliar to the horse was placed in the pen for 180 s. The object was a horizontal piece of wood (diameter: 0.03 m; length: 1 m) with a vertical piece of green plastic (0.8 m × 0.8 m) and coloured filaments hung up. The number of contacts (sniffing or nibbling) and glances at the novel object were recorded.

(4) Social isolation test (gregariousness): The audience horse was removed from the sight and hearing of the tested horse and the number of neighs of the tested horse was recorded for 90 s.

(5) Novel area test (fearfulness): Like the novel object test, this test also assessed reactivity to novelty, a trait underlying the dimension of fearfulness. For this test, the floor of the test box was divided into three zones of 2.7 m × 2.7 m each (**Fig. 1**). The first zone corresponded to a start zone (on the right in **Fig. 1**), and the third zone was an arrival zone (on the left in **Fig. 1**) containing a familiar bucket filled with pellets. Immediately prior to the test, each horse underwent a habituation phase during which an experimenter led it by the halter to the start zone and released it so that it was free to go to the arrival zone to eat. This process was repeated three times. For the test itself, a pink carpet (2 m × 2.7 m) was placed in the second zone. As in the habituation stage, the experimenter released the horse in the start zone, and the time until the horse put one foot on the carpet was recorded, along with the number of glances at the carpet. If the horse did not cross the carpet within 180 s, the test was terminated and a time of 181 s was assigned.

(6) Surprise test (fearfulness): This test assessed reactivity to suddenness, which is another trait underlying the dimension of fearfulness. A hidden experimenter opened a black umbrella in front of the animal 3 s after it started eating from the bucket of pellets (**Fig. 1**). The intensity of the startle response was quantified on the base of the observation criteria established by Lansade (2005).

In order to assess the dimension of locomotor activity, the box was virtually divided into six areas of equal size and the number of areas crossed during familiarization, the passive human test, and the novel object test was recorded. During these tests, the number of blowing was also recorded. Blowing is an indicator of fear or stress consisting in a forceful expulsion of air through the nostrils preceded by a raspy inhalation sound. Each blowing sound was recorded as a behavioural item.

2.4. Learning procedure

The next days, horses were submitted to an instrumental task where they had to learn to walk into a compartment (among two) when an experimenter pointed to it, in order to get a food reward (PR groups) or to avoid negative reinforcement (unpleasant tactile stimulation, NR groups). Learning procedure was composed of different stages with increasing difficulty (cues given by the experimenter that were progressively more discreet). This task has been developed during preliminary studies in order to obtain a task that could be learned with positive or negative reinforcements with no difference of performance in the absence of extrinsic stressor.

2.4.1. Experimental apparatus

Two “audience” horses were placed outside of the test zone behind a panel with a gate in order to be visible by the tested horse to avoid stress induced by social isolation. Familiarization and learning sessions were conducted in a test box composed of start, right and left compartments (**Fig. 2**). The start compartment was separated from right and left compartments by wooden bars set on the floor (15 cm high). In addition, there was an adjacent “stress box” that could be isolated from the learning compartments by closing a door. The use of the stress box will be detailed in the section devoted to the description of stress procedures.

2.4.2. Familiarization to experimental apparatus

Two days before learning sessions, horses were submitted to 2 familiarization sessions, one session per day. Each familiarization session lasted 5 min and was conducted as follows: during a first period, the horse was released into the box and was free to explore the entire test area for 2 min (the stress-box door was open). During a second period, the experimenter entered the test arena, put the horse in the stress box and closed the door for 1 min, in order to familiarize the horse with being caged into this box (an audience horse remained visible).

During a third period, the experimenter opened the door and the horse was free to explore again the entire test arena for 1 min. Finally, the horse was led into the stress box with the door closed once again for 1 min. To familiarize the horse with the food delivery procedure (at the beginning of the first and the third periods), a second experimenter hidden behind the box panels threw pellets (approximately 7 g) two times per session in one of the two buckets (randomly right or left). Thus, the horse could hear the food fall and eat it. Familiarization sessions were repeated until the horse ate the pellets in less than 10 s twice during the session.

2.4.3. Learning procedure

Each horse was subjected to a maximum of 120 trials. These trials were divided into 8 sessions of 15 consecutive trials. Because a previous study conducted in horses suggest that a learning procedure is more efficient by spacing training sessions over time (McCall et al. 1993), horses underwent one session every two days.

Before each trial, the horse was led into the start compartment by an experimenter (a woman dressed with a blue jacket) and faced him (**Fig. 2**). Then, the trial started with the experimenter pointing out one of the two compartments with a dynamic gesture during 10 s (with movements going from the horse to the compartment). The side of the pointed compartment was chosen randomly at each trial, with a 50/50 proportion and with no more than two consecutive trials using the same compartment. The type of gesture used by the experimenter depended on the stage:

- *Stage 1*: the experimenter pointed out the compartment with his entire arm tended horizontally and making dynamic movements from the horse to the compartment, while holding the lunge in his hand in such a way that at each movement the lunge was slightly put in tension toward the compartment, for a maximal duration of 10 s.
- *Stage 2*: the experimenter made the same action as during stage 1 except the lunge was not present and, then, did not exert any physical pressure on the horse (duration of 10 s).
- *Stage 3*: the experimenter pointed out the compartment with his forearm tended horizontally and making dynamic movements going from the horse (without any physical contact) to the compartment (duration of 10 s).
- *Stage 4*: the experimenter made the same action as during stage 3 except he only used his hand to point out the compartment (duration of 10 s).

A success was a trial during which the horse directly went into the pointed compartment in less than 5 seconds, its four legs having crossed the wooden bar. Each horse submitted to a

new stage as soon as it performed 4 successes out of 5 consecutive trials in a given stage. Horses were not limited in the number of stages they could attempt to reach during a session.

During a trial, if the horse did not go into the compartment pointed out by the experimenter before the end of the 10 s during which the experimenter pointed out one of the compartments (as presented above), the experimenter encouraged the horse to exhibit the desired response by guiding it for a maximal duration of 10 s. Guidance consisted for the experimenter in emphasizing his gesture (stages 1, 2) or by using a previously learned indication (stages 3, 4). During the stages 1 and 2, the gesture emphasize consisted in repeating the initial gesture with the addition of a movement from the experimenter's chest accompanying the dynamic gesture. During the stages 3 and 4, the guidance consisted in using the gesture used in the previous stage; *i.e.* guidance consisted in pointing at the compartment with the entire arm or with the forearm for stages 3 or 4, respectively. If the horse was not entering a compartment after the 10 s of guidance, or if it went into the wrong compartment at any time, the experimenter led it to the right compartment with a lunge. As soon as the horse went spontaneously or was conducted into the pointed compartment, its action was reinforced (see details below).

For the horses learning with positive reinforcements (*PR* groups), the reinforcement consisted in receiving a handful of pellets (approximately 7 g) delivered in the bucket of the compartment by a hidden experimenter as soon as the horse entered in the pointed compartment. For the horses learning with negative reinforcements (*NR* groups), the reinforcement consisted in aversive tactile stimulations that started 5 s after the beginning of the trial, or as soon as the horse went into the wrong compartment, and were stopped as soon as it entered into the pointed compartment. Stimulations consisted in a stick that was applied in order to induce an unpleasant stimulation by touching the flank.

2.4.4. Behaviours recorded during learning procedure

Before the beginning of each trial, the horse was led into the start position and then was held during 10 s into this position. During this 10-s interval, we recorded the number of times the horse sniffed or nibbled the experimenter, glanced at an audience horse, exhibited blowing sounds, startle reactions, ears pointed backward, exploring the environment (sniffing or nibbling the floor), defecating and crossing the wooden bar.

2.4.5. Stress procedure

Three times per session, before each block of five trials, all the horses were led and released by a second experimenter into the stress box during 30 s. For the horses from non-stressed groups (PR / NS and NR / NS), no particular event occurred during these 30 s and the horses could see an audience horse. By contrast, horses from stressed groups (PR / S and NR / S) could not see the audience horses because a tarpaulin was previously held along the wall. In addition, these horses were submitted to three sudden events spaced out of 10 s: emission of loud noises (e.g. dog barks, bell ringing, people talking loudly), surprise movements (shaking of the tarpaulin, water jet or air jet emitted toward the horse) and introduction of an unfamiliar object (e.g. colorful cardboard box, colorful balloons (Valenchon et al. 2013)). The animals were prevented from seeing the experimenters during this procedure. After this stress procedure, the horses were immediately led to the start compartment in order to start a learning trial.

2.5. Cortisol measurement

We assessed salivary cortisol concentration because it is a relevant and non-invasive indicator of physiological stress in horses (Peeters et al. 2011; Harewood et McGowan 2005; Moons et al. 2005; Jongman et al. 2005; Schmidt et al. 2010b; Schmidt et al. 2010a). On sessions 1 and 3, two salivary samples were collected before and after learning sessions using cotton buds. These two sessions were analyzed because they covered the period during which all the horses were present during learning sessions. From the 4th session, some horses had reached all the stages criteria and were then not tested anymore. Cotton buds were then centrifuged at 3000 g for 20 min at 4°C and the saliva was stored at -20 °C until analysis. Saliva was collected and cortisol was measured in 20 µl samples by using a luminescence immunoassay kit (LIA, IBL, Hamburg, Germany). The measurements were performed without replicates in a single assay. The intra-assay coefficients of variation were 4.8% and 4.1% at 1.8 ng/ml and 9.7 ng/ml, respectively. The assay sensitivity was 0.25 ng/ml. We compared the increase in salivary cortisol concentration between groups (*i.e.* increase = concentration after session – concentration before session).

2.6. Statistical analyses

We used XLSTAT software (Addinsoft Software, Paris, France) to analyse the data. Comparisons between groups were made using Kruskal-Wallis tests following by Dunn tests by pair. Spearman-rank correlations were calculated between the parameters recorded during

the temperament tests and learning performances. Behaviours were analysed only during the first three learning sessions by summing the numbers of behaviour on this entire period. These sessions were chosen because they covered the period during which all the horses were present during learning sessions. Results are presented as median and interquartile range. The level of statistical significance was set at $P \leq 0.05$ and the level of tendency at $P \leq 0.10$.

2.7. Ethical note

The experiments were conducted under a license from the French Ministry of Agriculture (no. 37-125). At the end of the experiment, the animals returned to normal breeding at the INRA station. Neither injury nor pain was observed on the horses. The acute stressors used were inspired by real stressors often encountered by domestic animals: short-term social isolation lasting a few seconds combined with novel and sudden stimuli or events (Valenchon et al. 2013). Horses lived in social groups and were taken to a paddock daily. Horses were not food deprived during the entire experimental period.

3. Results

3.1 Influence of the type of reinforcement and stress

Learning performances

Horses learning with positive reinforcements without exposure to extrinsic stressors reached significantly less stages and needed more trials to reach the Stage 1 criterion than under non-stressful conditions (**Table 1**, PR/S vs. PR/NS groups, Dunn tests, $P_{\text{Stages reached}} = 0.04$, $P_{\text{Trials to reach Stage 1}} = 0.03$). Horses learning with negative reinforcements tended to need more trials to reach the Stage 1 criterion under stressful conditions than under non-stressful conditions, but they did not differ in the number of stages reached (NR/S vs. NR/NS groups, Dunn tests, $P_{\text{Stages reached}} = 0.11$, $P_{\text{Trials to reach Stage 1}} = 0.06$). Horses learning with positive and negative reinforcement did not differ in the number of stages reached and the number of trials needed to reach Stage 1, both under non-stressful conditions (PR/NS vs. NR/NS groups, Dunn tests, $P_{\text{Stages reached}} = 0.79$, $P_{\text{Trials to reach Stage 1}} = 0.80$) and under stressful conditions (NR/NS vs. PR/NS groups, $P_{\text{Stages reached}} = 0.82$, $P_{\text{Trials to reach Stage 1}} = 0.57$).

Behaviours during learning sessions

Independently of the type of reinforcement, horses learning under stressful conditions exhibited significantly more alert postures, startle reactions and glancing at an audience horse

than horses learning under non-stressful conditions (**Table 1**, Dunn tests, $P < 0.05$). In addition, NR / S horses exhibited more ears pointed backward and more blowing than the non-stressed horses (from both PR / NS and NR / NS groups, Dunn tests, $P < 0.05$). PR / S horses did not significantly differ from the others groups, and they only tended to exhibit more ears pointed backward than PR / NS horses (Dunn test, $P = 0.09$). No significant differences were observed between the 4 groups in the number of times horses explored the environment, defecated or crossed the wooden bar.

Salivary Cortisol Concentrations

During session 1, increase in salivary cortisol concentrations was significantly higher in PR / S group than in PR / NS and NR / NS groups (Dunn tests, $P < 0.05$, **Table 1**). During session 3, increase in salivary cortisol concentrations was significantly higher in PR / S group than in the other groups (Dunn tests, difference with PR / NS group: $P < 0.01$, with NR / NS group: $P = 0.01$, and with NR / S group: $P < 0.05$).

3.2. Influence of temperament on learning performances according to the type of reinforcement and stress

Regarding horses learning with negative reinforcement, in NR / NS group the number of trials needed to reach the stage 1 criterion was significantly correlated with the intensity of the startle response during the surprise test (variable related to fearfulness) and with the number of areas crossed (variable related to locomotor activity, $P < 0.05$, **Table 2**). In NR / S group, the number of stages reached was significantly and negatively correlated with the number of glancing at the novel area ($P < 0.02$), the total number of blowing ($P = 0.05$), and tended to be negatively correlated with the latency before eating during the novel area test ($P = 0.07$). The number of trials needed to reach stage 1 criterion was negatively correlated with the number of sniffing and nibbling at the novel object ($P < 0.05$), with the number of sniffing and nibbling at the passive human ($P < 0.05$), and the number or areas crossed, $P < 0.05$).

By contrast, only one negative correlation between a variable related to fearfulness and the level of learning performance was found for each group of horses learning with positive reinforcements. The number of stages reached was negatively correlated with the number of glancing at the novel area in PR / NS group ($P = 0.05$), and negatively correlated with the number of glancing at the novel object in PR / S group ($P = 0.05$).

4. Discussion

Our study shows that exposure to extrinsic stressors prior testing has a negative effect on learning performances. Interestingly, this negative effect appears to be stronger in the task based on positive reinforcement. In addition, learning performance appears to be differentially related to temperament according to the presence and the source of stress. As hypothesized, fearfulness has a positive effect on learning performances in the presence of intrinsic stressors (*i.e.* use of negative reinforcement without extrinsic factor), and a negative effect on learning performances with the presence of extrinsic stressors. Interestingly, the strongest relationships between temperament and performances were observed in the presence of both extrinsic and intrinsic factors, with the most fearful horses being the worst performers.

4.1. Influence of stress on learning performances

Exposure to extrinsic stressors prior learning impaired (in the PR task) or tended to impair (in the NR task) learning performances. The stress-induced impairment of cognitive functions is a well-known phenomenon (Sandi et Pinelo-Nava 2007; Mendl 1999). It can be explained by a disruption of neurophysiological processes and/or by a modification of nonmnemonic variables (such as attention) induced by the exposure to stressor (Woodson et al. 2003; Mendl 1999). Although our study does not allow us to conclude whether an alteration in neurophysiological processes is involved, we did observe that the two stressed groups were characterized by increased startled reactions and alert behaviours oriented outside of the learning task, both indicators of stress, and glancing at the audience horse. It might suggest that the stress-induced impairment of learning performances might have been induced, at least in part, by the stressed horses being more attentive to their environment, rather than to the task itself.

Interestingly, exposure to extrinsic stressors appeared to have a stronger negative effect on performances in learning task with positive reinforcements than with negative reinforcements. Indeed, exposure to extrinsic stressors decreased significantly both the number of stages reached and the number of trials needed to reach the first-stage in PR horses, whereas it only tended to decrease the number of trials needed to reach the first-stage in NR horses. The higher stress-induced impairment of learning performances in PR horses might be related to the fact that acute stress is known to induce a decrease of food motivation (Abbott et al. 2003; Upton et Riley 2013; Folkedal et al. 2012). Therefore, an impaired motivation for food-

rewards induced by the exposure to extrinsic stressors reinforcements might have impaired learning performances with positive reinforcements to a greater extent than with negative reinforcements.

4.2. Influence of temperament on learning performances according to the presence and the source of stress

As expected, relationships between temperament and learning performances differed according to the presence of either intrinsic or extrinsic stressors. In horses that learned with intrinsic stressors only (negative reinforcement), two correlations were found and suggested that the most fearful and active horses were the best performers. In horses learning with positive reinforcements, one correlation was found in each group and suggests that the most fearful horses might have been the worst performers either in presence or absence of exposure to extrinsic stressors. These correlations are in accordance with the study of Lansade and Simon (2010) showing that fearful horses are favored in a task with negative reinforcements, but disadvantaged in a task with positive reinforcements (see also LeScolan et al. 1997). The positive effect of fearfulness when using negative reinforcements is also in accordance with studies conducted in other species (passive avoidance in quails: Richard et al. 2000; active avoidance in guppies: Budaev et Zhuikov 1998). Negative reinforcements constitute a form of intrinsic stressors which are known to potentiate learning performances by focusing mnemonic and attention processes toward the cognitive task (Mendl 1999; Sandi et Pinelo-Nava 2007; e.g. Akirav et al. 2001). Since the most fearful animals are known to be predisposed to exhibit higher state of stress than less fearful animals (e.g. Scheid et Noë 2010; synthèses : Cockrem 2007; Cockrem 2013), the positive effect of intrinsic stressor on performances might have been higher in fearful individuals and might explain why they were the best performers in our task with negative reinforcements. By contrast, fearful horses might have performed worse than less fearful horses in the task with positive reinforcements because no intrinsic stressors were present to focus their attention toward the task, either in presence or absence of exposure to extrinsic stressors. This negative effect of fearfulness on learning performances in tasks with positive reinforcements is in accordance with other studies in various species conducted either in presence or absence of extrinsic stressors (e.g. horse: Lesimple et al. 2011b; Valençon et al. 2013; raven: Range et al. 2006; rook: Scheid et Noë 2010). However, only a few correlations were observed and thus appealed to further investigations, including a larger number of subjects, to confirm these relationships between temperament and learning performances.

Interestingly, the highest number of correlations was found in the group of horses learning with both intrinsic (negative reinforcement) and extrinsic stressors. Indeed several significant correlations were observed and suggest that fearful individuals were the worst performers in those conditions. First, this result suggests that the presence of intrinsic stressors did not counterbalance the negative effect of fearfulness on performances in case of exposure to extrinsic stressors, but appears to potentiate it. It is possible that the accumulation of both extrinsic and intrinsic stressors might have induced such a high level of stress in fearful horses that it would make these horses disorganised. This disorganisation might have inhibited the focalisation of attention and/or mnemonic processes toward the learning task despite the presence of negative reinforcement (intrinsic stressors), and then disadvantaged the most fearful animals.

In a lesser extent, other dimensions of temperament than fearfulness appeared to influence learning performances. Especially, locomotor activity had a positive effect on learning performances in the task with negative reinforcements, independently of exposure to extrinsic stressors. The task requiring a displacement, the most active horses might have been more inclined to exhibit the appropriate behaviour and succeed in the instrumental task. The fact that these relationships have been observed only in the task with negative reinforcement suggest that this tendency might have been revealed by the motivation of the horses to avoid the negative stimulations, as previously observed in an active avoidance task (Lansade et Simon 2010). Results also suggest that reactivity to humans was negatively related with learning performances in the task where negative reinforcement were combined with exposure to extrinsic stressors. The performances of horses with a propensity to be in contact with humans might have been less affected by the stress because they might have been more attentive to human cues.

4.3. Influence of positive and negative reinforcements (intrinsic stressors) on learning performances and stress level

Without exposure to extrinsic stressors, learning performances with positive or negative reinforcements did not differ since PR/NS and NR/NS groups did not differ in the number of stages reached, nor in the number of trials needed to reach the first-stage criterion. In a previous study, Sankey et al. (2010a) showed that horses learned faster a task (stay motionless using a vocal order) with positive reinforcements than with negative reinforcements. These

discrepancies might be explained by the level of motivation to avoid each reinforcement, which probably differed between the two studies. In our experiment, animals would have been probably more prone to avoid the negative reinforcement, which combined a tactile and visual stimulation, whereas in Sankey et al.' study, the negative reinforcement was only visual, and thus was less uncomfortable for the animal. In addition, efficiency of a given reinforcement also depends on its relevance with the learning response desired. For instance, our use of an aversive tactile stimuli probably encouraged the horse to avoid it with a displacement, which is relevant in our task, but would be less relevant in the Sankey et al.' task where the horse had to stay motionless for instance. Therefore, both studies indicate that horses learn a task with positive reinforcements at least as well as with negative reinforcements and suggest that the efficiency of a given reinforcement does not depend on its nature (positive or negative). From an applied point of view, these are important results considering the fact that other authors showed that the use of positive reinforcements enhanced both horse's welfare and its relationship with humans (Hausberger et al. 2008; Sankey et al. 2010a; Sankey et al. 2010b; Minero et Canali 2009), whereas traditional training of horses is often based on negative reinforcement (Murphy et Arkins 2007; Nicol 2002).

Our results do not allow us to conclude if one of our reinforcements was more stressful than the other one. Indeed, without exposure to extrinsic stressor, both physiological and behavioural parameters did not differ between PR and NR horses. In addition, when horses were exposed to extrinsic stressors, our results appeared to be contradictory. Indeed, both PR and NR horses exposed to extrinsic stressors exhibited several indicators of stress compared to PR and NR horses not exposed to extrinsic stressors (*i.e.* alert behaviours, startle responses), but cortisol results suggest that this state of stress might be higher in PR horses than in NR horses (*i.e.* only PR horses showed increased cortisol level at the third learning session), and some behavioural parameters suggest the opposite (*i.e.* only NR horses showed significantly more ears backward and blowing, both indicators of discomfort or stress, with extrinsic stress than without extrinsic stress). These results suggest that the nature of the state of stress might differ between PR and NR horses according to the reinforcement used. On one hand, PR horses learning with exposure to extrinsic stressors were the worst performers. Thus, increased cortisol in PR horses might then reflect a form of frustration of being unable to succeed the task and to do not access quickly to food reward (Christensen et al. 2012). On the other hand, the fact that NR horses exposed to extrinsic stressors showed more ears oriented backward, and more blowing, might reflect a stronger negative perception of the

learning situation from these horses than horses learning with positive reinforcements. It might be interpreted more in terms of discomfort rather than in terms of state of stress. This is in accordance with the view that ears pointed backward in horses might reflect negative perception of stimuli (Fureix et al. 2009; Sankey et al. 2010a; Hausberger et al. 2008). However, further investigations are needed to understand these discrepancies and clearly determine if one of these two reinforcements is more stressful for the horses in case of exposure to acute extrinsic stressors.

Figure captions

Figure 1. Experimental apparatus for temperament tests

Figure 2. Experimental apparatus for learning tests

Table 1. Median (1st-3rd interquartiles) of the number of stages reached and trials needed before reaching the Stage 1 criterion and of each behaviour exhibited by the horses during the three first learning sessions. “PR”: positive reinforcement, “NR”: negative reinforcement, “NS”: non-stressed, “S”: stressed). a vs. b, $P < 0.05$, Kruskal-Wallis tests, $df = 3$, followed by Dunn tests

Table 2. Spearman-rank correlations between temperament variables (left column) and learning variables (number of stages reached and number of trials before reaching the stage 1 criterion) according to the type of reinforcement used and the state of stress. “R+”: positive reinforcement, “R-”: negative reinforcement, “NS”: non-stressed, “S”: stressed. Only variables showing a tendency (italics, $P < 0.10$) or significant correlations (bold, $P \leq 0,05$) are presented

Figure captions

Figure 1. Experimental apparatus for temperament tests

Figure 2. Experimental apparatus for learning tests

Table 1. Median (1st-3rd interquartiles) of the number of stages reached and trials needed before reaching the Stage 1 criterion and of each behaviour exhibited by the horses during the three first learning sessions. “PR”: positive reinforcement, “NR”: negative reinforcement, “NS”: non-stressed, “S”: stressed). a vs. b, $P < 0.05$, Kruskal-Wallis tests, $df = 3$, followed by Dunn tests

Table 2. Spearman-rank correlations between temperament variables (left column) and learning variables (number of stages reached and number of trials before reaching the stage 1 criterion) according to the type of reinforcement used and the state of stress. “R+”: positive reinforcement, “R-”: negative reinforcement, “NS”: non-stressed, “S”: stressed. Only variables showing a tendency (italics, $P < 0.10$) or significant correlations (bold, $P \leq 0,05$) are presented

Figures and tables

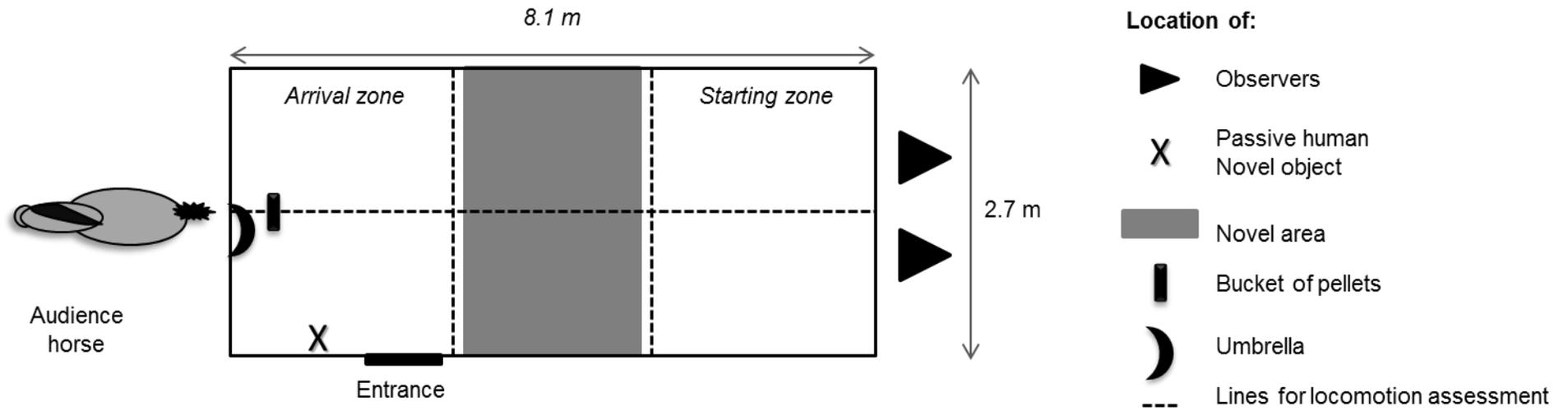


Figure 1.

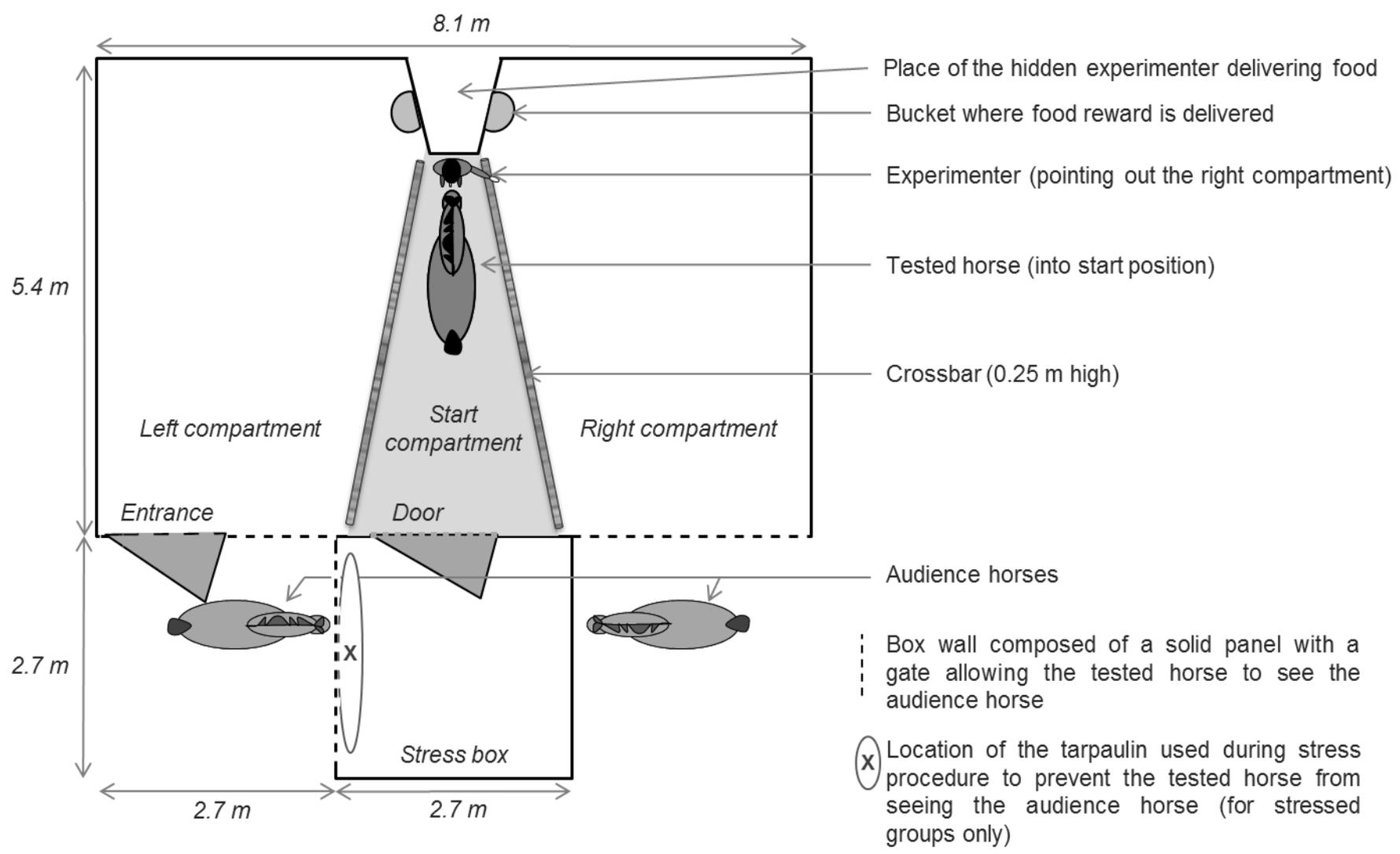


Figure 2.

Table 1.

Learning performance	Experimental group				Kruskal-Wallis test (df = 3)
	PR/NS	PR/S	NR/NS	NR/S	
Number of stages reached	3 (2-4) a	1 (1-2.5) b	4 (1-4) a	1 (1-3.5) ab	K = 8.67, P = 0.03
Number of trials to reach Stage 1 criterion	52 (26.5-81.5) a	109 (55-120) b	49 (45-63.5) a	89 (38.5-120) ab	K = 8.68, P = 0.03
Behaviour					
Alert	2 (0-4.5) a	6 (4.5-11) b	1 (0.5-3.5) a	11 (4-14) b	K = 19.50, P < 0.0001
Startle reactions	0 (0-0) a	2 (0.5-3.5) b	0 (0-0) a	1 (1-3) b	K = 26.3, P < 0.0001
Glancing at audience horse	4 (2-9) a	19 (15-23.5) b	7 (3.5-12.5) a	20 (13.5-27.5) b	K = 16.32, P = 0.001
Ears backward	1 (0.5-7) a	5 (2.5-12) ab	2 (0.5-11) a	10 (7-19.5) b	K = 11.22, P = 0.01
Blowing	0 (0-2) a	1 (0.5-4.5) ab	1 (0-5) a	6 (2.5-9) b	K = 10.77, P = 0.01
Physiology					
Increase in salivary cortisol (session 1)	0.05 (-0.29-0.41) a	0.4 (0.34-0.54) b	0.13 (-0.03-0.26) a	0.275 (0.07-0.61) ab	K = 7.36, P = 0.06
Increase in salivary cortisol (session 3)	-0.04 (-0.16-0.18) a	0.53 (0.15-0.93) b	0.11 (-0.05-0.14) a	0.1 (-0.08-0.26) a	K = 8.83, P = 0.03

Different letters indicate statistical differences between experimental groups (P < 0.05)

Table 2.

	Experimental groups							
	PR /NS		PR/S		NR/NS		NR/S	
Temperament Variables	Number of stages reached	Number of trials to reach Stage 1 criterion	Number of stage reached	Number of trials to reach Stage 1 criterion	Number of stage reached	Number of trials to reach Stage 1 criterion	Number of stage reached	Number of trials to reach Stage 1 criterion
FEARFULNESS- Number of sniffing and nibbling the novel object							$r_s = 0.45$ $P = 0.09$	$r_s = -0.52$ $P = 0.04$
FEARFULNESS- Number of glancing at the novel object			$r_s = -0.57$ $P = 0.03$					
FEARFULNESS- Latency before eating during novel area test							$r_s = -0.48$ $P = 0.07$	
FEARFULNESS- Number of glancing at the novel area	$r_s = -0.51$ $P = 0.05$						$r_s = -0.54$ $P = 0.04$	
FEARFULNESS- Intensity of startle response during surprise test					$r_s = -0.57$ $P = 0.03$			
FEARFULNESS- Number of blowing							$r_s = -0.55$ $P = 0.03$	
REACTIVITY TO HUMANS- Number of sniffing and nibbling the passive human								$r_s = -0.57$ $P = 0.03$
LOCOMOTOR ACTIVITY- Number of areas crossed					$r_s = -0.61$ $P = 0.02$	$r_s = 0.54$ $P = 0.04$	$r_s = 0.54$ $P = 0.04$	$r_s = -0.51$ $P = 0.05$

E. Discussion et conclusion du chapitre 3

Notre étude a permis de mettre en évidence que la source de stress, intrinsèque ou extrinsèque, a un impact sur l'influence du tempérament sur les performances d'apprentissages.

En cas d'exposition à un stress intrinsèque seul (c'est-à-dire lors de la tâche basée sur des renforcements négatifs, sans stress extrinsèque), nous avons observé des corrélations positives entre la peur et les performances d'apprentissage, ce qui serait en accord avec les corrélations positives observées lors de l'acquisition de l'évitement actif dans l'étude de Lansade et Simon (2010) chez le cheval, et dans d'autres études également basées sur l'utilisation de renforcements négatifs chez d'autres espèces (évitement passif chez la caille : Richard et al. 2000; évitement actif chez le guppy : Budaev et Zhuikov 1998). L'ensemble de ces données suggèrent que les individus peureux pourraient être favorisés en cas de stress intrinsèque, conformément à notre hypothèse.

En l'absence de stress intrinsèque, dans chacun des deux groupes ayant appris à partir de renforcements positifs, on observe une corrélation négative entre une variable de peur et les performances d'apprentissage : que les chevaux aient été exposés ou non à des stress extrinsèques, les chevaux peureux ont toujours été défavorisés. Ces résultats sont en accord avec les corrélations négatives observées entre peur et performances d'acquisition observées lors de l'apprentissage du reculer (Lansade et Simon 2010) et dans le cadre de plusieurs études menées chez des espèces animales variées (ex. cheval : Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997; corvidés : Bogale et al. 2011; Scheid et Noë 2010). L'ensemble de ces données suggéreraient que les individus peureux seraient défavorisés en cas d'utilisation de renforcements positifs lors d'apprentissages.

Le plus grand nombre de corrélations entre les variables de tempérament et d'apprentissage a été observé dans le cas où les chevaux étaient soumis à la fois à des stress intrinsèques et extrinsèques. Dans ce cas, plusieurs corrélations négatives entre peur et performances d'apprentissage ont été observées, suggérant que les chevaux peureux étaient défavorisés dans ces conditions. Ce résultat suggère tout d'abord que l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques aurait inhibé l'effet positif du stress intrinsèque sur les performances des individus peureux. Au-delà d'une « annulation » de l'effet positif du stress intrinsèque, la présence de facteurs de stress intrinsèques semble même avoir potentialisé l'effet délétère de

la peur en cas de stress extrinsèque. Cela peut s'expliquer par le fait que l'accumulation des différents facteurs de stress, extrinsèques et intrinsèques, a pu induire chez les individus peureux un niveau de stress si élevé, qu'il aurait induit un haut niveau de désorganisation. Cette désorganisation aurait ainsi pu inhiber la focalisation des processus attentionnels et/ou mnésiques vers la tâche du fait de l'utilisation des renforcements négatifs (stress intrinsèques). Si on se réfère à la relation en « U » inversé, on se placerait donc ici dans la deuxième partie de la courbe, c'est-à-dire lorsque l'état de stress est délétère, en particulier pour les individus au tempérament peureux.

En conclusion, cette dernière étude nous a permis de mettre en évidence que (1) de manière générale, le stress extrinsèque a un effet délétère sur les performances d'apprentissage qui semble être encore plus fort dans le cas de la tâche basée sur des renforcements positifs, et (2) que la dimension de peur semble être reliée à des performances d'apprentissage supérieures en cas de stress intrinsèques et à des performances inférieures en cas de stress extrinsèques, voire en l'absence de stress. De plus, nous avons observé que l'ajout de stress intrinsèques pourrait potentialiser l'effet délétère de la peur sur les performances d'apprentissage en cas de stress extrinsèques.

DISCUSSION GENERALE

Tableau 3. Synthèse des principaux résultats obtenus concernant l'effet délétère ou bénéfique de l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques sur les performances moyennes des individus en fonction du type de tâche, du type de renforcement utilisé et de la phase de mémoire ciblée par l'exposition aux stress extrinsèques (« Etat de Stress pendant / après » : état de stress pendant ou après acquisition (apprentissage) ou session de test (mémoire de travail). Les effets significatifs sont indiqués en gras et les tendances en italique. ⁽¹⁾ d'après Lansade and Simon 2011. Les cellules grisées correspondent aux cas où l'effet de l'exposition à des stress extrinsèques n'a pas été testé.

Type de tâche cognitive	Renforcement	Nom de la tâche utilisé dans le manuscrit	Effet global du stress extrinsèque sur les performances cognitives	
			Etat de stress pendant	Etat de stress après
Acquisition d'une tâche instrumentale	Renforcement positif	Reculer ¹ Aller dans un compartiment Toucher un objet	délétère <i>bénéfique</i>	
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif ¹ Aller dans un compartiment	<i>délétère</i>	
Réacquisition d'une tâche instrumentale (8 jours après)	Renforcement positif	Toucher un objet	<i>délétère</i>	délétère
Mémoire de travail	Item alimentaire	Test de choix avec délai	délétère	
Extinction	Renforcement positif	Reculer		
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif		
Rappel à très long terme (22 mois)	Renforcement positif	Reculer		
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif		

Tableau 4. **Synthèse des principaux résultats obtenus concernant le sens des corrélations obtenues entre variables de tempérament et de performances** en fonction du type de tâche, du type de renforcement utilisé et de la phase de mémoire ciblée par l'exposition aux stress extrinsèques (« Absence de stress » : pas de stress extrinsèque, « Stress pendant / après » : état de stress pendant ou après acquisition (apprentissages) ou session de test (mémoire de travail). Ces résultats sont détaillés pour les dimensions de peur et d'activité locomotrice. Les trois autres dimensions (sensibilité, réactivité à l'Homme et grégarité) ont été regroupées dans la dernière partie du tableau du fait du faible nombre de corrélation observé. Les signes « + / - » indiquent le sens de l'effet de la corrélation (B). Les tendances sont signalées par la présence de parenthèses. ⁽¹⁾ d'après Lansade and Simon 2010

Type de tâche cognitive	Renforcement	Nom de la tâche utilisé dans le manuscrit	(B) Corrélations entre variables de tempérament et de performances cognitives								
			Peur			Activité locomotrice			Autres dimensions		
			Absence de stress	Stress pendant	Stress après	Absence de stress	Stress pendant	Stress après	Absence de stress	Stress pendant	Stress après
Acquisition d'une tâche instrumentale	Renforcement positif	Reculer ¹	-						Sensibilité +		
		Aller dans un compartiment	-	-					Réactivité à l'Homme -		
		Toucher un objet					+				
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif ¹	+			+					
		Aller dans un compartiment	+	-		+	+				
	Réacquisition d'une tâche instrumentale (8 jours après)	Renforcement positif	Toucher un objet			-		(+)			Grégarité -
Mémoire de travail	Item alimentaire	Test de choix avec délai	+	-							
Extinction	Renforcement positif	Reculer	+ peureux + résistants								
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif							- sensibles + résistants		
Rappel à très long terme (22 mois)	Renforcement positif	Reculer	Pas de variabilité								
	Renforcement négatif (stress intrinsèque)	Evitement actif							Pas de variabilité		

Corrélation non testée
 + Corrélation(s) positive(s)
 - Corrélation(s) négative(s)
 Absence de corrélation

DISCUSSION GENERALE

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse avaient pour principaux objectifs de déterminer (1) si les différences interindividuelles de performances d'apprentissage et de mémoire chez le cheval peuvent être reliées au tempérament des individus en fonction du type et de la phase de mémoire considérée et (2) si ces relations varient en fonction stress.

Nos résultats suggèrent une réponse positive dans les deux cas. En effet, nous avons vu au cours des différents chapitres que (1) les performances cognitives sont bien reliées au tempérament et que ces relations semblent spécifiques au type de processus cognitif impliqué, et (2) que ces relations sont effectivement différentes en fonction de la présence ou non de facteurs de stress et de leur source.

Dans une première partie de la discussion, nous aborderons l'influence qu'a le stress sur les performances d'apprentissage et de mémoire des chevaux à l'échelle du groupe. Ensuite, nous discuterons des relations entre tempérament et performances individuelles. Les différentes études menées soulignent en particulier l'importance de la dimension de peur parmi les cinq dimensions étudiées. Dans une moindre mesure, la dimension d'activité locomotrice est également apparue significative au cours de nos analyses. Les trois autres dimensions, la grégarité, la sensibilité tactile et la réactivité à l'Homme semblent au contraire avoir peu d'impact sur les performances d'apprentissage et de mémoire. Nous discuterons également des limites de ce travail de thèse, afin d'avoir une vision plus large et d'esquisser certaines perspectives d'études. Enfin, nous discuterons de l'exploration de la potentielle relation entre dimension de peur et rigidité cognitive, en mettant nos résultats en perspectives avec ceux de la littérature et ceux qui feront suite à cette thèse. Les implications pratiques de nos conclusions seront principalement développées dans un dernier paragraphe.

A. Effet du stress extrinsèque sur les performances cognitives

Dans chacune de nos études, nous avons consacré une première partie à l'évaluation de l'effet global de l'exposition à des facteurs de stress sur les performances cognitives des individus, avant de s'intéresser à la caractérisation à l'échelle individuelle des relations entre

tempérament et performances. Ce premier paragraphe consistera à commenter les principaux effets du stress que nous avons observés.

Les différents effets de l'exposition à des facteurs de stress extrinsèques sur les performances cognitives que nous avons observés sont synthétisés dans le **tableau 4**. Majoritairement, nous avons observé une altération des performances d'acquisition et de réacquisition des différents apprentissages instrumentaux lorsque l'état de stress survenait au moment où les processus d'acquisition ou les processus de consolidation étaient a priori prédominants. Une altération des performances de mémoire de travail lorsque l'état de stress survenait pendant la tâche a également été observée. L'altération des performances cognitives par le stress a pu être induite par une perturbation des processus mnésiques et/ou d'attention (Mendl 1999). En effet, les processus mnésiques, comme les processus d'acquisition, de consolidation ou encore de mémoire de travail, peuvent être perturbés en cas de stress d'intensité modérée, notamment par le biais de l'action complexe des catécholamines et glucocorticoïdes agissant au niveau périphérique et central et de manière spécifique en fonction de la structure cérébrale ciblée et de leur chronologie (pour des articles de synthèse, voir Roozendaal 2002; Joels et Baram 2009). Ces aspects ne sont pas directement mesurable dans le cas de nos expérimentations, mais il est intéressant de noter que suite à une exposition à des facteurs de stress extrinsèques, nous avons observé à plusieurs reprises une élévation de cortisol salivaire (**articles 3 et 4**) ainsi qu'une augmentation de la fréquence et de la variabilité du rythme cardiaque (**article 2**), attestant d'une réponse physiologique de stress induisant potentiellement des répercussions au niveau du système nerveux central. Par ailleurs, le stress a pu également agir sur les performances cognitives par le biais d'une perturbation des processus attentionnels. Cette perturbation de l'attention peut se traduire par un rétrécissement et une réorientation du focus attentionnel vers des éléments a priori relatifs au stress et au détriment des éléments périphériques (dans notre cas, la tâche cognitive), ne représentant a priori pas d'intérêt immédiat pour la survie de l'individu (Easterbrook 1959 in Carere et Locurto 2011; Mendl 1999). Nous pensons que lorsque les chevaux étaient soumis à des facteurs de stress extrinsèques, l'état de stress a pu altérer ensuite l'attention portée vers la tâche cognitive, indépendante de l'épisode de stress survenu auparavant (Mendl 1999). Ce résultat est corroboré par le fait qu'au cours de nos différentes études, les lots stressés ont toujours été caractérisés par une propension plus grande à présenter des postures de vigilance, qui sont des

comportements d'alerte orientés vers l'environnement extérieur, et non vers la tâche. Cela pourrait indiquer que les individus soumis à un stress porteraient davantage leur attention sur la surveillance de l'environnement plutôt que vers la tâche cognitive. Cette altération des processus attentionnels peut expliquer en particulier pourquoi les performances de mémoire ont été altérées en cas de stress extrinsèque, la mémoire de travail étant fortement dépendante du niveau d'attention des individus. Les performances lors des tâches d'apprentissage instrumentales ont pu elles-mêmes être altérées par un déficit de mémoire de travail. Enfin, lorsque les tâches instrumentales étaient basées sur des renforcements alimentaires, il est possible que les performances d'apprentissage aient également été altérées par une diminution de motivation alimentaire, qui est en effet connue pour accompagner parfois la réponse d'un organisme à un stress aigu (e.g. Upton et Riley 2013; Folkedal et al. 2012).

B. Le stress module les relations entre tempérament et performances cognitives

Nos résultats montrent que le stress est un facteur clé dans la compréhension des liens entre tempérament et performances cognitives. Afin d'avoir une vision globale des différentes relations que nous avons observées entre tempérament et performances des chevaux à travers les différentes tâches cognitives, nos résultats ont été synthétisés dans le **tableau 5**. La première partie de ce tableau présente le sens des corrélations observées entre la dimension de peur et les performances cognitives. On observe alors que la présence de stress intrinsèque seul (lors d'utilisation de renforcements négatifs) induit systématiquement des corrélations positives entre dimension de peur et performances d'apprentissage, alors que les corrélations sont négatives dans la plupart des autres cas (aucun stress ou exposition à des stress extrinsèques). La deuxième partie du tableau concerne l'influence de la dimension d'activité locomotrice qui s'avère avoir un effet positif sur les performances d'apprentissage en cas de stress, quelle que soit sa source. Enfin, la dernière partie du tableau est consacrée aux trois autres dimensions et permet de constater qu'elles sont peu reliées aux performances cognitives. Ces aspects sont discutés par la suite, pour la dimension de peur d'abord, puis pour la dimension d'activité locomotrice et pour les trois autres dimensions enfin (sensibilité tactile, grégarité et réactivité à l'Homme).

1. Influence de la dimension de peur

Parmi toutes les dimensions de tempérament mesurées, la dimension de peur semble essentielle dans la mesure où elle est la seule dont l'influence est ressortie dans chacune de nos études (voir la première partie du **tableau 5**). Les études visant à explorer les liens entre tempérament et cognition se sont souvent focalisées sur des traits de tempérament relatifs à la peur, avec des résultats contrastés (ex. Brinks et al. 2007; Budaev et Zhuikov 1998; Herrero et al. 2006; Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997; Range et al. 2006; Richard et al. 2000; Scheid et Noë 2010). Dans le cadre de cette thèse, nous avons également observé que l'influence de la peur pouvait varier, mais nos résultats nous permettent surtout de proposer un cadre nécessaire pour comprendre cette variabilité. En effet, nos résultats suggèrent que les relations entre la dimension de peur et les performances cognitives dépendent de la présence ou non de facteurs de stress et de leur source, extrinsèque ou intrinsèque par rapport à la tâche cognitive :

(1) Lorsqu'un état de stress était induit par exposition à un stress extrinsèque, les individus peureux étaient souvent désavantagés, que la tâche soit associée à un stress intrinsèque (tâche « aller dans un compartiment » avec renforcement négatif : **article 4**) ou non (tâche « toucher un objet » : **article 3**, tâche « aller dans un compartiment » avec renforcement positif : **article 4**).

(2) En cas de stress intrinsèque uniquement, c'est-à-dire lorsque des renforcements négatifs étaient employés et sans ajout de stress extrinsèque, les individus peureux étaient avantagés (tâche « aller dans un compartiment » avec renforcement négatif : **article 4**), ce qui confirme le résultat obtenu lors de l'acquisition de l'évitement actif dans l'étude ayant précédé cette thèse (Lansade et Simon 2010).

(3) En l'absence de stress (extrinsèque ou intrinsèque) nous avons observé que les individus peureux pouvaient être avantagés lors d'une tâche de mémoire de travail (**article 2**), désavantagés lors de l'apprentissage d'une tâche instrumentale (tâche « aller dans un compartiment » avec renforcement positif : **article 4**), confirmant ainsi le résultat obtenu lors de la tâche du reculer dans l'étude de Lansade et Simon (2010) et plus résistants à l'extinction.

Nous pensons que dans ces trois cas, l'influence de la peur pourrait s'expliquer principalement par le fait que les individus peureux présenteraient un état de stress supérieur aux autres individus. Ainsi, en cas de présence de facteurs de stress, l'effet du stress serait davantage marqué chez les individus au tempérament peureux, aussi bien en cas de stress délétère (stress extrinsèque) que facilitateur (stress intrinsèque) pour les performances cognitives.

(1) La dimension de peur est délétère en cas de stress extrinsèque

En cas d'exposition à des stress extrinsèques, avant ou après la ou les session(s) d'acquisition ou de test, les corrélations entre performances cognitives et dimension de peur étaient systématiquement négatives (apprentissage : tâche «toucher un objet» : **article 3**, tâche «aller dans un compartiment» : **article 4** et tâche de mémoire de travail : **article 2**).

A chaque fois que des corrélations négatives entre peur et performances étaient observées en cas de stress extrinsèque, un effet globalement délétère du stress (sur l'ensemble des chevaux) était également observé (voir **tableau 4**). Par exemple, l'exposition à un stress extrinsèque après l'acquisition altérait globalement les performances de réacquisition 8 jours plus tard lors de la tâche «toucher un objet». De la même manière, l'exposition à des stress extrinsèques avant les sessions d'acquisition de la tâche « aller dans un compartiment » a eu un effet globalement délétère sur les performances d'apprentissage des chevaux, aussi bien dans le cas de renforcements positifs que négatifs et des corrélations négatives entre peur et performances étaient observées dans ces cas-là. Comme nous l'avons vu, l'altération des performances cognitives par le stress a pu être induite par une perturbation des processus mnésiques et/ou d'attention (Mendl 1999; Dukas 2002) et ces perturbations seraient plus marquées chez les individus au tempérament peureux. En effet, la dimension de peur et ses dimensions proches ou équivalentes sont étroitement liées à la manière dont un individu répond à une situation stressante (Korte et al. 2005; Koolhaas et al. 2010). Face à un même facteur de stress, un animal peureux aura en général tendance à présenter une intensité d'état de stress supérieure à un animal moins peureux (ex. Scheid et Noë 2010; synthèses : Cockrem 2007; Cockrem 2013).

L'**article 4** nous a permis de constater que l'influence négative de la peur en cas d'exposition à des facteurs de stress extrinsèques pourrait être encore plus forte lorsque celle-ci est combinée à la présence de stress intrinsèques. Comme nous l'avons discuté dans le cadre du chapitre 3, nos résultats suggèrent qu'au-delà d'une inhibition de l'effet positif du stress intrinsèque (qui sera développé dans la partie suivante), la présence de facteurs de stress intrinsèques semble avoir potentialisé l'effet délétère de la peur en cas de stress extrinsèque.

(2) La dimension de peur est favorable en cas de stress intrinsèque

En l'absence de stress extrinsèque, nous avons constaté que lorsque des renforcements négatifs étaient utilisés (stress intrinsèque), les chevaux étaient d'autant plus performants qu'ils étaient peureux (**article 4** ; Lansade and Simon 2010). Des résultats similaires ont été observés dans des tâches utilisant des renforcements négatifs dans la littérature (évitement passif chez la caille : Richard et al. 2000; évitement actif chez le guppy : Budaev et Zhuikov 1998). L'avantage des individus peureux dans ce genre de tâche d'évitement pourrait être induit par un état de stress plus important, ce qui amplifierait chez ces individus l'effet bénéfique du stress intrinsèque. En effet, comme déjà évoqué, une réponse au stress peut s'accompagner d'une réorganisation des processus cognitifs, attentionnels et motivationnels qui se fait au profit des informations reliées au stress et au détriment des éléments périphériques (Mendl 1999). Lorsque le stress est induit par la tâche cognitive elle-même (stress intrinsèque), la tâche à accomplir peut donc « bénéficier » de ces modifications qui accompagnent la réponse au stress. Ainsi, l'attention de l'individu est augmentée vers la tâche et rend les individus moins sensibles aux perturbations extérieures. Ce phénomène peut être illustré par une étude menée chez l'Homme où il a été montré que les éléments centraux d'une histoire sont mieux retenus lorsque ceux-ci ont une valeur émotionnelle forte, mais que cela s'accompagne également d'une moindre rétention des éléments périphériques d'arrière-plan (Reisberg et Heuer 1995 in Mendl et al. 1999). De plus, la motivation nécessaire à l'apprentissage peut être accrue par le fait qu'elle se confond avec la motivation ressentie par le sujet pour se soustraire au stress en cas de stress intrinsèque. Ces phénomènes expliquent pourquoi les stress intrinsèques sont généralement considérés comme étant d'avantage

bénéfique pour les performances cognitives que les stress extrinsèques (Sandi et Pinelo-Nava 2007), et ceci d'autant plus chez les individus au tempérament peureux selon nos résultats.

(3) En l'absence de facteurs de stress, la peur a une influence variable et parfois pas d'influence sur les performances cognitives

En l'absence de stress, nous avons observé que la peur avait une influence négative sur l'acquisition de la tâche de l'**article 4** basée sur des renforcements positifs (« aller dans un compartiment»), ce qui est en accord avec les corrélations négatives observées entre dimension de peur et performances d'apprentissage dans la cadre de la tâche du reculer (Lansade et Simon 2010). Cet effet délétère de la peur sur les performances d'apprentissage que nous observons dans certains cas est conforme à ce qui est souvent décrit dans la littérature (cheval, tâches instrumentales avec renforcement positif: Lesimple et al. 2011b; LeScolan et al. 1997; corbeau freux, tâche instrumentale de coopération : Scheid et Noë 2010; grand corbeau, tâche instrumentale de discrimination : Range et al. 2006). Par ailleurs, nous n'avons pas observé de corrélations entre la dimension de peur et les performances d'apprentissage lors de la tâche où le cheval devait toucher du nez un objet ciblé pour obtenir de l'aliment (**article 3**). Enfin, nous avons observé une relation positive entre la dimension de peur et les performances de mémoire de travail (**article 2**). Ce dernier résultat est en accord avec deux études menées chez la souris (Brinks et al. 2007) et chez l'Homme (Sorg et Whitney 1992) qui suggèrent que les individus au tempérament peureux présenteraient de meilleures performances de mémoire de travail que les individus au tempérament moins peureux en l'absence de facteurs de stress.

Tout d'abord, ces résultats suggèrent que la dimension de peur ne serait pas reliée à un déficit cognitif général puisqu'elle peut avoir un effet positif ou négatif sur les performances cognitives selon les cas. De plus, en l'absence de facteur de stress, l'influence de la peur pourrait être spécifique aux processus cognitifs mis en jeu et aurait une influence plutôt négative sur les processus d'apprentissage instrumentaux et une influence plutôt positive sur les processus de mémoire de travail. La formation d'apprentissage implique des processus de consolidation de mémoire à long terme par exemple (McGaugh 2000), mais également la mémoire de travail, en particulier lors de la phase d'acquisition. Des relations entre dimension

de peur et performances cognitives clairement opposées entre les processus d'acquisition d'une tâche instrumentale et les processus de mémoire de travail restent donc étonnantes et appellent à envisager d'autres pistes d'explication.

Les différences observées entre nos études pourraient également provenir du type d'action que l'animal doit réaliser dans chacune des tâches. Notamment, plusieurs auteurs soutiennent que l'effet délétère de la peur pourrait être dû à une moindre propension des sujets peureux à approcher et manipuler les dispositifs expérimentaux (Scheid et Noë 2010; Range et al. 2006; Carere et Locurto 2011). Cependant, nos résultats semblent plutôt aller à l'encontre de cette hypothèse puisque des corrélations négatives avec la peur étaient observées dans le cadre des tâches instrumentales ne nécessitant pas de contact physique avec un objet (tâche du reculer, tâche «aller dans un compartiment») et non dans les tâches où l'animal devait toucher un cône avec son nez ou approcher et mettre son nez dans un seau. Le fait que nous ayons soumis nos chevaux à d'importantes procédures de familiarisation dans chaque étude a pu masquer cet effet potentiel de la dimension de peur sur la propension des individus à approcher et manipuler les dispositifs expérimentaux.

Enfin, l'environnement dans lequel les tests ont été réalisés pourrait également être à l'origine de cette variabilité de résultats. En effet, pour des raisons que nous avons détaillées au fil du manuscrit, différentes tâches cognitives ont été utilisées tout au long de cette thèse, notamment en fonction du type de performances cognitives que nous cherchions à mesurer et du moment d'exposition aux facteurs de stress ciblé. Il en résulte que certaines tâches ont été réalisées dans un box familier d'une surface restreinte entourés de murs hauts (4 x 6 m, tâche du toucher d'objet et tâche de mémoire de travail) et que d'autres ont été réalisées dans des aires de test plus vastes (tâche du reculer et tâche où l'animal devait se déplacer dans un compartiment). De manière intéressante, nous observons justement un effet positif ou nul de la peur sur les performances dans les cas où les tests se déroulaient dans un environnement plutôt restreint (tâche de mémoire de travail, **article 2**) et un effet négatif dans les cas où les tests se déroulaient dans un environnement plutôt ouvert (tâche « aller dans un compartiment, **article 4** et tâche du reculer, Lansade and Simon 2010). Le niveau d'attention pourrait donc ici encore expliquer les relations observées entre dimension de peur et performances cognitives (Dukas 2002). Globalement, en l'absence de facteurs de stress, les individus les plus peureux pourraient présenter un état d'éveil supérieur aux autres individus. Dans un

environnement où l'attention des individus peureux aurait pu être canalisée et les distractions limitées par l'utilisation d'un box aux parois hautes, cet état d'éveil pourrait avoir un effet stimulant sur les performances cognitives, conformément à la première partie de la relation en « U » inversé (Baldi et Bucherelli 2005; Yerkes et Dodson 1908). Au contraire, dans un environnement plus ouvert, plus propice aux distractions et offrant davantage de stimuli sur lesquels les chevaux peureux pourraient fixer leur attention au détriment de la tâche, cet état d'éveil aurait un effet négatif sur les performances d'apprentissage.

2. Influence des autres dimensions de tempérament

A plusieurs reprises, des corrélations positives entre la dimension d'activité locomotrice et les performances d'acquisition ont été mises en évidence (voir 2^{ème} partie du **tableau 5**). Cette relation semble être modulée par le stress dans la mesure où des corrélations ne sont observées qu'en cas d'exposition à des stress extrinsèques (tâche «toucher un objet», **article 3**) ou intrinsèques (tâche «aller dans un compartiment»), comme cela avait déjà été observé dans le cas de l'acquisition de la tâche d'évitement actif (Lansade et Simon 2010). Ces résultats suggèrent donc qu'un certain niveau de stress peut être nécessaire pour faire ressortir l'influence du tempérament. C'est également le constat qui a été fait dans l'**article 3** où aucune corrélation entre variables de tempérament et variables d'apprentissage n'a été observée chez les animaux témoins non-stressés. Contrairement à la dimension de peur, l'influence de la dimension d'activité locomotrice est en revanche toujours positive et ne varie pas en fonction de la source de stress. La dimension d'activité locomotrice est positivement reliée aux performances d'acquisition lors de tâches qui impliquent un déplacement locomoteur (tâche «aller dans un compartiment», Lansade and Simon 2010), mais également lors de la tâche «toucher un objet», dont l'action se limite pour le sujet à toucher avec le nez l'un des cônes qui se trouve devant lui (pas de déplacement nécessaire). Ces résultats suggèrent que la dimension d'activité locomotrice chez le cheval pourrait être reliée à un haut niveau d'activité général, et pas seulement d'un point de vue locomoteur, mais d'une vraie propension à agir. Une constatation similaire a été rapportée chez d'autres espèces animales telle que la souris, chez qui les individus ayant une propension à l'exploration, indépendamment de leur réactivité émotionnelle, présentent les meilleures performances d'apprentissage (Matzel et al. 2003; Light et al. 2008). Les animaux au tempérament actifs

pourraient être plus enclins à agir, ce qui augmenterait leur probabilité d'émettre la réponse recherchée (Sih et Del Giudice 2012; Carere et Locurto 2011). A contrario, on peut imaginer qu'avoir un tempérament actif pourrait être un désavantage dans des tâches qui requièrent la cessation ou l'inhibition d'un comportement actif. Chez le rat, il a été montré que les individus les plus performants lors de tâches instrumentales d'évitement actif sont également les moins performants lors de tâches d'évitement passif où l'animal doit omettre d'exprimer un comportement pour être renforcé (Brush 2003). Il serait intéressant de développer des paradigmes similaires chez le cheval pour tester cette hypothèse. L'intérêt est d'autant plus grand que, dans la pratique, l'apprentissage de l'immobilité est également très courant et peut influencer dans une certaine mesure la sécurité des manipulateurs lors de divers procédures (ex. soins courants, soins vétérinaires, en début et en fin de travail...etc.).

A travers nos différentes études, nous avons constaté que les autres dimensions de tempérament sont parfois reliées aux performances d'apprentissage et de mémoire, mais de façon plus occasionnelle (voir dernière partie du **tableau 5**). Dans le cadre de notre première étude, nous avons constaté qu'un faible niveau de sensibilité tactile était relié à une forte résistance à l'extinction lors de la tâche d'évitement actif. Comme présenté dans le cadre de la discussion de l'**article 1**, nous pensons que cette relation peut s'expliquer par le fait que les renforcements négatifs utilisés étaient des jets d'air émis contre la peau des animaux. Les individus au tempérament peu sensible ont pu être moins sensibles à ces renforcements négatifs, ayant pour conséquence l'apprentissage d'une association plutôt de type *stimulus* → *réponse*, résistante à l'extinction par définition, par rapport aux animaux plus sensibles qui pourraient répondre davantage au regard du renforcement.

Contrairement à nos attentes, la dimension de grégarité n'a pas été fortement reliée aux performances d'apprentissage et de mémoire. Notre hypothèse était que les individus au tempérament réactif à l'isolement social auraient été désavantagés en cas d'épisode de stress extrinsèque, comme les individus peureux, du fait que ces épisodes consistaient entre autres en un isolement social de courte durée. L'effet délétère de la grégarité n'a été observé que lorsque les individus étaient soumis à un stress extrinsèque après acquisition (tâche «toucher un objet», **article 3**), c'est-à-dire lorsque les processus de consolidation étaient théoriquement prédominants. Cela suggère que durant l'épisode de stress lui-même (pendant une durée de 30

minutes dans ce cas-là) les individus grégaires ont pu présenter un état de stress supérieur aux individus moins grégaires, ce qui a eu des répercussions négatives sur leurs performances huit jours plus tard. En revanche, pendant les sessions d'acquisition faisant suite à un épisode de stress extrinsèque, l'absence de relation avec la dimension de grégarité (**articles 2 et 4**) suggère que les états de stress des individus ne variaient pas en fonction de leur réactivité à l'isolement social. Cela peut être dû à la présence des chevaux publics lors des sessions d'apprentissage et de mémoire de travail qui ont pu faciliter la récupération des animaux grégaires suite au stress d'isolement social.

Enfin, la dimension de réactivité à l'Homme ne s'est avérée être reliée aux performances cognitives des chevaux que dans un cas : les chevaux les plus proches de l'Homme présentaient de meilleures performances d'acquisition lors de la tâche « aller dans un compartiment » avec renforcements négatifs et exposition à des stress intrinsèques (**article 4**). Nous pensons que cet effet positif de la proximité à l'Homme a pu être induit par une plus grande attention portée par les signaux visuels donnés par l'expérimentateur, notamment du fait que ces chevaux sont plus enclins à approcher l'Homme. Nous aurions pu nous attendre à observer plus fréquemment ce type de liens dans la mesure où plusieurs de nos tâches impliquent la présence d'un expérimentateur. Il est possible que le fait que les chevaux expérimentaux appartenant au centre de recherches de l'INRA aient été trop habitués à être manipulés pour pouvoir mettre en évidence une influence de la dimension de réactivité à l'Homme (Lansade et Simon 2010).

3. Conclusion sur les liens entre tempérament, performances cognitives et stress

Ces travaux de thèse nous ont permis de confirmer l'hypothèse selon laquelle les relations entre tempérament et performances cognitives peuvent être modulées par le stress. En particulier, nous avons montré que les relations entre dimension de peur et performances pouvaient être positives, en cas de stress intrinsèque, ou négatives, en cas de stress extrinsèque. Ces résultats contribuent à mieux comprendre pourquoi cette dimension de tempérament est à la fois décrite comme étant un facteur perturbateur et facilitateur des performances cognitives selon les auteurs. Nous avons également observé que d'autres

dimensions de tempérament, telle que la dimension d'activité locomotrice, pouvaient également être reliées aux performances cognitives, en particulier en cas de stress. Bien que ces relations soient moins fréquentes que celles observées avec la dimension de peur, nous pensons qu'il ne faut pas les négliger afin de ne pas tomber dans une vision réductrice des liens entre tempérament et cognition. De même, nos travaux montrent qu'il est important de considérer le facteur « stress ». Nous pensons que la connaissance des liens entre tempérament et cognition ne peuvent faire l'économie de la caractérisation des liens entre dimensions de tempérament et performances cognitives dans un large éventail de situations dépendant notamment du niveau de stress de cette situation.

C. Les limites de ce travail

1. Les limites liées à l'utilisation d'un modèle de tempérament

Une des premières limites de ce travail concerne le choix du modèle de tempérament. Comme nous l'avons précisé en introduction, nous avons fait le choix de nous baser sur un modèle préexistant qui permet de caractériser les chevaux selon cinq dimensions indépendantes dont la stabilité à travers le temps et les situations a été prouvée (Lansade et Bouissou 2008; Lansade et al. 2008a, b; Lansade et al. 2008c). Nous avons choisi ce modèle car il s'agit de l'un des modèles les plus exhaustifs parmi ceux mesurables à partir de tests standardisés, et non à partir de questionnaires comme il est courant de rencontrer chez des espèces domestiques tel que le chien (ex. Ley et al. 2009; Svartberg 2002; Svartberg et Forkman 2002) ou le cheval (ex. Lloyd et al. 2008, 2007; Momozawa et al. 2007). Ensuite, nous avons fait le choix de ne pas rechercher de nouvelles dimensions à ajouter à ce modèle car cela aurait nécessité un important travail expérimental qui ne nous aurait sans doute pas laissé assez de temps pour explorer également les performances cognitives et l'effet du stress. Ce choix implique donc que nous nous soyons limités à l'influence de ces cinq dimensions seulement sur les performances cognitives. De plus, il faut garder à l'esprit que l'utilisation de modèles de tempérament ne permet de faire qu'une approximation du tempérament d'un sujet. En conclusion, il est possible que d'autres dimensions de tempérament soient reliées aux performances d'apprentissage et de mémoire chez le cheval. Par exemple, on peut imaginer

que des dimensions telles que la persévérance, mise en évidence chez d'autres espèces (Gosling 2001), pourraient être reliées à des performances d'apprentissage et de mémoire. Le trait de persévérance peut se définir comme la tendance à continuer de répéter un comportement après la cessation de stimuli ou situation évoquant ce comportement (Strelau 1996). On peut imaginer que ce trait de tempérament soit associé à une moindre distractibilité lors de tâches d'apprentissage et à une plus grande résistance à l'extinction. Comme nous l'avons vu précédemment, il serait également intéressant d'explorer davantage la dimension d'activité locomotrice pour déterminer si elle n'est pas reliée à un niveau d'activité plus général. Des études visant à élargir le modèle de Lansade et ses collaborateurs, ou à tester les relations avec les performances cognitives en utilisant un autre modèle de tempérament pourrait permettre de compléter les conclusions que nous tirons de ce travail de thèse.

Un autre facteur relatif au tempérament qui mérite également d'être pris en compte est le fait que le tempérament ne soit pas figé et peut dans une certaine mesure être influencé par l'expérience de l'individu. Lors d'une étude que nous avons menée en parallèle aux travaux présentés dans ce manuscrit (voir annexe 1, p.227), nous avons en effet constaté que placer de jeunes chevaux durant 12 semaines dans un environnement enrichi ou standard a eu pour conséquence de modifier leur tempérament, en les rendant moins peureux, moins sensibles et plus proches de l'Homme et d'améliorer leurs performances d'apprentissage lors de tâches complexes (cet aspect sera également développé dans C.1. *La peur est-elle reliée à une forme de rigidité cognitive*). Ces modifications étaient relativement durables, car encore présentes trois mois après la fin du protocole. Ces résultats suggèrent qu'il serait également intéressant d'intégrer l'étude de facteurs de variation du tempérament, tel que le milieu de vie, dans l'étude des relations entre tempérament et cognition.

2. Les limites liées au choix des tâches cognitives utilisées et à l'utilisation de sujets femelles

Une autre limite de notre travail est le nombre restreint de tâches d'apprentissage. Notamment, l'ensemble de ce travail n'a porté que sur des tâches instrumentales et de mémoire de travail. Comme présenté en introduction, nous avons fait ce choix pour des

raisons à la fois fondamentales et pratiques. Nous avons également étudié la mémoire de travail car il s'agit d'un type de mémoire indispensable, entre autres, à l'acquisition des apprentissages instrumentaux. Ce choix nous a permis d'aboutir à un certain nombre de constats et de conclusions, mais pour aller plus loin il faudrait continuer à explorer d'autres types d'apprentissages instrumentaux (ex. tâche requérant une inhibition motrice de l'individu, comme discuté précédemment), voir même élargir à d'autres types d'apprentissages associatifs comme des conditionnements Pavlovien. Au vue de la littérature qui décrit une relation plutôt positive entre stress et performances lors de conditionnement Pavlovien, en particulier lors de conditionnement aversifs (Sandi et Pinelo-Nava 2007), on pourrait s'attendre à ce que la dimension de peur soit positivement reliée aux performances dans ce type de tâche. Il serait également intéressant d'explorer les liens entre tempérament et tâches cognitives mesurant le degré flexibilité cognitive des animaux, comme nous le verrons par la suite (paragraphe C.1), la flexibilité cognitive étant définie par la capacité d'un sujet à adapter son comportement face à des fluctuations de son environnement, notamment en inhibant des réponses qui ne sont plus optimales (Alexander et al. 2007; Bentosela et al. 2008).

Il serait également intéressant d'élargir la population à des sujets mâles. En effet, une étude récente menée chez la mésange montre que les relations entre rapidité d'exploration et performance lors de tâches requérant un haut degré de flexibilité est inversée en fonction du sexe : les individus les plus rapides à explorer un nouvel environnement sont les plus performants chez les mâles, mais les moins performants chez les femelles (Titulaer et al. 2012).

3. Les limites liées au choix des facteurs de stress

Dans le cadre de cette thèse, nous avons fait varier la source de stress, mais lors de chaque étude nous n'avons utilisé qu'une seule et même procédure de stress dont l'intensité était a priori modérée. A l'avenir, il conviendrait de faire varier d'autres caractéristiques du stress que celles que nous avons ciblées, tel que la durée d'exposition aux facteurs de stress (pour tendre vers l'étude de stress chroniques) ou l'intensité. Notamment, pour aboutir à une modélisation complète de la relation *stress x tempérament x performances cognitives*, il serait intéressant d'établir une gamme assez large d'intensité de stress pour un type de stress donné.

Ainsi, dans le cas d'une relation en « U » inversé par exemple, nous pourrions faire une approximation de l'intensité à partir de laquelle l'effet du stress sur la performance cognitive bascule du caractère facilitateur au caractère délétère pour un type de tempérament donné. L'étude de l'influence de stress chronique sur cette relation entre tempérament et performances cognitives serait également très intéressante dans la mesure où ses effets sur la cognition diffèrent parfois du stress aigu. Le stress chronique a généralement un effet délétère sur les performances d'apprentissage et de mémoire et diminue la flexibilité cognitive (Sandi et Pinelo-Nava 2007; Conrad 2010; Dias-Ferreira et al. 2009; Mika et al. 2012; Schwabe et al. 2008), mais il pourrait également avoir un impact sur le tempérament lui-même. Notamment, l'exposition à des stress chroniques est connue pour augmenter le niveau de peur chez les animaux (ex. cailles : Calandreau et al. 2011; moutons : Destrez et al. 2013). De plus, des situations de stress chronique sont parfois rencontrées dans le cadre de l'élevage d'animaux domestiques ou de laboratoire et sont donc également étudiées dans des perspectives appliquées (Harris et al. 2010; Veena et al. 2009; Wiepkema et Koolhaas 1993).

1. Bilan de l'utilisation des indicateurs de stress physiologiques

Au cours de ce travail de thèse, deux types de mesures physiologiques ont été utilisés sur la base de méthodes de prélèvement non invasives : l'enregistrement de l'activité cardiaque dans l'**article 2** (article de synthèse chez les animaux de ferme, dont le cheval : von Borell et al. 2007) et l'évaluation de la concentration en cortisol salivaire dans les **articles 3** et **4** (exemples d'études chez le cheval : Peeters et al. 2011; Preuss et Wolf 2009; Schmidt et al. 2010b). Ces mesures nous ont avant tout permis de vérifier que nos procédures de stress induisaient un état de stress. En effet, dans l'**article 2**, nous avons observé que l'exposition aux facteurs de stress extrinsèques avait bien pour effet d'augmenter la fréquence cardiaque et la variabilité du rythme cardiaque pendant la tâche de mémoire de travail, suggérant une forte dominance du système sympathique par rapport au système parasympathique qui signe un état de stress. Ensuite, dans les **articles 3** et **4**, nous avons également observé que l'exposition aux facteurs de stress extrinsèques a eu pour effet une élévation de la concentration en cortisol salivaire. Lorsque cette exposition avait lieu avant la session d'apprentissage, l'élévation de cortisol était maintenue durant cette session. Les concentrations de cortisol salivaire chez des

individus témoins nous ont également permis de constater que nos tâches d'apprentissage n'induisaient pas à elles-seules une élévation de la concentration en cortisol salivaire (tâche « aller dans un compartiment » de l'**article 4**). Dans certains cas, ces tâches pouvaient s'accompagner d'une diminution de cette concentration (tâche « toucher un objet » de l'**article 3**).

Ces mesures se sont révélées de bons indicateurs à l'échelle du groupe, mais elles n'ont pas permis d'améliorer la caractérisation individuelle. En effet, nous avons testé à plusieurs reprises les corrélations entre concentrations en cortisol salivaire et variables de tempérament ou de performances cognitives, mais nous n'avons pas observé de corrélations claires entre ces variables (ces données ne figurent pas dans le manuscrit). Cela peut être dû au fait que nos chevaux ont été testés à différents moments de la journée, alors que la concentration en cortisol basal chez le cheval est connue pour être fluctuante selon un rythme circadien sur lequel s'additionne parfois des sécrétions épisodiques (Toutain et al. 1988; Mormede et al. 2007; Peeters 2011a). L'ordre de passage des individus au sein d'une journée ayant toujours été équilibré entre les groupes expérimentaux au cours de nos expériences, ces fluctuations ne posent pas de problème à l'échelle du groupe mais elles ont pu induire des différences dans les résultats à l'échelle de l'individu.

Des corrélations entre les indices relatifs à l'activité cardiaque et les variables de mémoire de travail ont également été recherchées lors de l'expérience présentée dans l'**article 2** (chapitre 2). Ces résultats n'ont pas été développés dans l'article, mais il s'avère que des corrélations entre les indices de variabilité du rythme cardiaque et les performances de mémoire de travail ont été observées. Des corrélations positives relient en effet les performances de mémoire de travail des chevaux et des indicateurs de dominance sympathique qui signalent un état de tension de l'animal lorsque les chevaux étaient exposés à des facteurs de stress extrinsèques. Ce résultat nous a semblé d'autant plus intéressant que cet état de tension ne s'observait pas immédiatement après l'exposition au stress, mais apparaissait plutôt au fil des essais. Cela suggère l'hypothèse que cet état de tension ne serait donc pas une réponse directe à l'exposition aux facteurs de stress, mais serait plutôt une conséquence de l'effort cognitif induit par la soumission des individus à la tâche de mémoire de travail dans des conditions

stressantes, ce qui peut être considéré comme une forme de défi cognitif non négligeable qui a pu activer le système sympathique. De tels effets d'un effort cognitif sur la variabilité de la fréquence cardiaque ont déjà été observés chez la chèvre et la vache (Langbein et al. 2004; Hagen et Broom 2004). Ces données de la littérature suggèrent donc que les individus les moins performants ne présenteraient pas cet état de tension car l'exposition aux facteurs de stress a pu distraire leur attention et limiter ainsi la sollicitation mnésique, ce qui aurait réduit la tension induite par l'effort cognitif. De telles corrélations n'ont pas été observées dans le groupe d'individus non stressés. Cela confirme donc l'idée que la tâche de mémoire est plus difficile en conditions stressantes, ce qui explique l'effet délétère du stress sur les performances de mémoire de travail des chevaux.

Pour conclure sur l'utilisation de ces mesures physiologiques, nous recommandons leur utilisation à l'échelle des groupes afin de caractériser l'effet global d'un traitement. En revanche, les données relatives au cortisol se sont avérées peu informatives à l'échelle individuelle dans nos conditions expérimentales. Une étude plus détaillée de la cinétique de libération de cortisol dans la salive serait nécessaire pour avoir un avis plus précis sur ce marqueur physiologique de stress. Les données relatives à l'activité cardiaque semblent être également intéressantes à l'échelle individuelle, mais des études nécessitent d'être menées pour mieux comprendre leurs relations avec les processus cognitifs chez le cheval.

2. Les limites liées à l'interprétation des résultats

Les conclusions que nous avons tirées tout au long de ce travail reposent sur un ensemble de corrélations observées entre les variables de tempérament et des variables de performance. Le nombre de corrélations observé ainsi que les variables de tempérament qui ressortaient significativement variaient parfois d'une étude à une autre. Dans certains cas, nous pouvions même n'observer qu'une seule corrélation significative entre une variable représentative d'une dimension de tempérament et la variable de performance au sein d'un groupe expérimental. Nous avons conscience que cela représente une limite de notre travail. Cela est dû au fait que le tempérament ne conditionne pas à lui seul les performances d'apprentissage et de mémoire d'un individu. Par conséquent, nous nous attendions à n'observer que des liens

assez ténus entre les variables de tempérament et celles d'apprentissage. Cela est d'autant plus vrai que nous avons conduit nos expériences sur des groupes expérimentaux composés d'environ 15 à 30 individus. Ces effectifs sont adaptés aux contraintes expérimentales et matérielles liées à l'utilisation du modèle équin (limitation du nombre de chevaux disponibles, procédures d'apprentissage longues...etc.), mais ils restent faibles comparés à ceux rencontrés dans d'autres études qui ont visé à caractériser l'incidence du tempérament sur d'autres facteurs et qui ne reposent pas sur une démarche expérimentale. Chez l'Homme par exemple, de telles études basées sur des questionnaires sont menées sur des centaines d'individus (e.g. McMeekin et al. 2013; Smith et al. 2012). A partir de nos effectifs de quelques dizaines d'individus, il est donc logique que les liens entre tempérament et performances cognitives ne ressortent pas systématiquement avec la même force et sous une forme identique. La force de nos résultats repose davantage sur la cohérence de l'ensemble des liens que nous avons observés au sein de chaque étude et entre les études. C'est dans cette optique que nous nous sommes également intéressés aux tendances statistiques qui, même si elles ne nous permettent pas de statuer sur la présence ou non de relations, permettent de donner des indications quant à la cohérence des corrélations observées pour une même dimension de tempérament.

D. Perspectives et implications pratiques

1. La peur est-t-elle reliée à une forme de rigidité cognitive ?

Lorsque nous avons mené nos tests d'extinction dans le cadre de notre 1^{ère} étude (**article 1**), nous avons observé que la résistance à l'extinction était corrélée positivement à la dimension de peur dans la tâche du reculer. En plus, nous avons observé que pour l'ensemble des variables de peur, tous les indices de corrélation r_s ($> 0,1$) suggéraient systématiquement une relation positive entre la résistance à l'extinction et la dimension de peur, aussi bien dans le cadre de la tâche du reculer que de l'évitement actif. Ces données nous ont poussé à explorer davantage ces relations qui laissent penser que l'influence de la peur chez le cheval serait spécifique au phénomène d'extinction, indépendamment de la tâche instrumentale considérée, contrairement à l'acquisition. Lors d'une autre étude que nous avons menée récemment, une relation positive entre peur et résistance à l'extinction a également été observée dans le cadre de l'apprentissage où l'animal doit toucher un cône pointé du doigt par un expérimentateur

pour obtenir de l'aliment (même procédure que dans l'**article 3**), aussi bien en l'absence de stress extrinsèque qu'en conditions stressantes (l'état de stress était induit pendant l'acquisition en testant l'individu dans un box qu'il avait précédemment associé à des épisodes de stress (Fortin et al. en préparation).

Comme nous l'avons évoqué à plusieurs reprises au fil de ce manuscrit, la résistance à l'extinction peut être considérée comme une forme de déficit de flexibilité cognitive chez les individus peureux, qui s'expliquerait par leur sensibilité au stress (Holmes et Wellman 2009; Jiao et al. 2011; Servatius et al. 2008). Dans une certaine mesure, la résistance à l'extinction pourrait même traduire l'expression préférentielle de stratégies d'habitude plutôt que de stratégies dirigées vers un but chez les chevaux peureux (Schwabe et Wolf 2011b). Nos résultats suggèrent donc que certains profils de tempéraments chez le cheval pourraient être reliés à des profils cognitifs particuliers caractérisés par une forme de rigidité.

La rigidité cognitive pourrait également être reliée aux comportements de stéréotypies. En effet, chez diverses espèces captives et domestiques, les animaux manifestant des stéréotypies présenteraient une plus grande résistance à l'extinction que des animaux témoins (campagnol des bois : Garner et Mason 2002; perroquet : Garner et al. 2003; ours : Vickery et Mason 2005; cheval : Hemmings et al. 2007; voir aussi synthèse de Mason et al. 2007). En particulier, Hemmings et ses collaborateurs (2007) ont montré que les chevaux présentant une stéréotypie orale (stéréotypie caractérisée par une dysfonction du ganglion basal) sont plus résistants lors d'un test d'extinction que des chevaux témoins. De plus, Parker et ses collaborateurs (2008) ont montré que ce type de chevaux présentent également des difficultés à former des relations de type *réponse instrumentale - conséquence* dans le cadre d'apprentissages instrumentaux, ce qui pourrait ici encore indiquer une tendance à développer des stratégies d'habitude plutôt que dirigées vers un but. Cela montre que la résistance à l'extinction observée par Hemmings et ses collaborateurs (2007) pourrait être liée à une prédominance de stratégies de type automatique chez les chevaux présentant cette stéréotypie. Enfin, Nagy et ses collaborateurs ont montré que des chevaux présentant ce type de stéréotypie orale auraient un tempérament de type réactif par rapport aux chevaux témoins. L'ensemble de ces résultats va donc dans le sens de nos résultats qui suggèrent que certains tempéraments pourraient être reliés à une résistance à l'extinction qui traduirait la

prédominance de stratégies d'habitude dans le cadre d'apprentissages instrumentaux et qui pourrait également être reliée à l'expression de comportements anormaux délétères pour le bien-être de l'animal.

En plus de l'étude des phénomènes d'extinction, deux autres études que nous avons menées nous suggèrent que des liens entre peur et flexibilité cognitive pourraient exister chez le cheval. Tout d'abord, lors d'une étude que nous avons menée en parallèle de ma thèse, nous avons testé l'influence de l'enrichissement du milieu de vie sur le bien-être, le tempérament et les performances d'apprentissage lors d'une tâche instrumentale à niveau de difficulté croissante chez de jeunes chevaux (voir annexe p. 227, résumé du symposium d'Ethologie Vétérinaire 2011). Cette tâche d'apprentissage consistait d'abord en un apprentissage instrumental classique, puis en une tâche de « Go / no Go », et enfin en une tâche de réversion. La tâche du « Go / no Go » consistait pour l'animal à discriminer deux stimuli, l'un indiquant qu'il devait toucher un objet avec son nez pour obtenir de la nourriture, et l'autre qui n'était suivi d'aucune récompense et pour lequel l'animal devait éteindre sa réponse. La tâche de réversion consistait à inverser les rôles des deux stimuli utilisés dans la tâche précédente. Tout comme une procédure d'extinction classique, les deux tâches décrites requiert un certain niveau de flexibilité cognitive. Les résultats obtenus ont montré que les chevaux élevés en milieu enrichi présentaient à la fois un tempérament moins peureux et plus proches de l'Homme et de meilleures performances lors des deux tâches les plus complexes (« Go / no Go » et réversion) que les chevaux vivant dans des conditions standards. Bien qu'aucun lien corrélationnel ne puisse être directement établi du fait des faibles effectifs, ces résultats montrent que les individus élevés en conditions standard sont à la fois les plus peureux et présentent un déficit de flexibilité cognitive, ce qui va également dans le sens des résultats obtenus lors des tests d'extinction (relation positive entre peur et résistance à l'extinction). Enfin, une dernière étude menée dans le laboratoire, parallèlement à cette thèse, a eu pour objectif de caractériser le phénomène de PIT (Transfert Pavlovien → Instrumental) chez le cheval. Le PIT se réfère à la capacité d'un animal à utiliser des indices Pavloviens qui prédisent l'arrivée d'une récompense dans le cadre d'une tâche instrumentale (Balleine et Dickinson 1998). Les résultats ont montré que les individus les plus peureux étaient les plus sensibles à la facilitation de la performance induite par le PIT. Ici encore, ces résultats

pourraient s'expliquer par une propension de ces individus peureux à former des stratégies d'habitude plutôt que dirigées vers un but.

Afin de continuer à explorer les relations entre dimension de peur et déficit de flexibilité cognitive en perspective de ce travail de thèse, nous souhaitons tout d'abord déterminer si la peur peut effectivement être reliée à l'utilisation préférentielle de stratégies d'habitude. Expérimentalement, il est possible de déterminer la prédominance de l'une des deux stratégies instrumentale en soumettant les sujets à des tests où l'on modifie les conséquences de la réponse instrumentale. On distingue deux grands types de tests pour révéler ces deux stratégies: 1) la *dévaluation de la récompense* et 2) la *dégradation de la contingence* (Balleine et Dickinson 1998; Corbit et Balleine 2003; Coutureau et Killcross 2003; Yin et al. 2005). Le premier type de test (*dévaluation de la récompense*) consiste à amoindrir ou rendre nulle la valeur motivationnelle du renforcement (Adams et Dickinson 1981; Balleine et al. 2003; Schwabe et Wolf 2010b). Cela peut être obtenu en augmentant préalablement le niveau de satiété de l'individu envers le renforcement alimentaire utilisé lors du conditionnement (*satiété sensorielle spécifique*), ou en associant la récompense à un malaise (*aversion gustative*). Les individus ayant développé des stratégies d'habitude devraient être insensibles à cette perte de valeur du renforcement et devraient donc persévérer davantage dans les réponses des individus qui ont développé des stratégies dirigées vers un but et pour qui l'action instrumentale est associée à sa conséquence. Nous avons décidé de ne pas développer ce type de test chez le cheval, à la fois pour des raisons éthiques que pratiques. En effet, le cheval, en conditions naturelles, est un herbivore qui mange de petites quantités de nourriture tout au long de la journée (16 à 18h / jour de pâturage Waring 2003). Un état de satiété est donc difficile à obtenir chez cette espèce et des procédures visant à proposer de la nourriture riche à volonté ou à rendre l'animal malade par pharmacologie seraient même dangereuses pour la santé des animaux. Une étude préliminaire a donc été menée afin de développer un test de *dégradation de la contingence*. Ce test consiste à ce que la conséquence (= renforcement) ne soit plus associée à la réponse instrumentale de manière systématique (Yin et al. 2005). En d'autres termes, la probabilité d'obtenir une récompense suite à une réponse sera équivalente à la probabilité d'en obtenir en l'absence de réponse. Les individus ayant développé des stratégies d'habitude devraient être insensibles à ce changement et continueront donc davantage à produire une réponse instrumentale en cas de dégradation de la contingence que les individus ayant développé des stratégies dirigées vers un but.

Le développement de ce test chez le cheval permet actuellement le déroulement d'une étude où un nombre important d'individus sont testés avec ce test de dégradation de la contingence. Cela va nous permettre de tester notre hypothèse selon laquelle les chevaux peureux développeraient préférentiellement des stratégies d'habitude plutôt que des stratégies dirigées vers un but. Ensuite, il sera intéressant de caractériser directement les liens entre tempérament et d'autres types de tâches requérant un haut niveau de flexibilité cognitif (ex. tâches de réversion). A plus long terme, nous pourrions également intégrer la variable de stress dans cette problématique, comme nous l'avons fait dans le cadre de cette thèse pour d'autres processus cognitifs.

2. Implications pratiques

Ce travail de thèse portant sur la caractérisation des liens entre tempérament et performances cognitives chez le cheval a également une visée appliquée. Les raisons à cela sont multiples. D'une part, le tempérament est au centre de préoccupations puisqu'il s'agit de l'un des premiers critères de sélection des chevaux par les acheteurs (enquête irlandaise : Hennessy et al. 2008; enquête australienne : Buckley et al. 2004; enquête française : Heydemann et Grosbois 2006). Il y a donc une forte demande du public en ce qui concerne les connaissances sur le tempérament équin et ses répercussions sur d'autres paramètres telle que la cognition. D'autre part, le grand public est également avide de connaissances générales sur l'apprentissage et la mémoire chez le cheval, aussi bien pour pouvoir disposer d'outils pratiques pour travailler avec leurs chevaux, que dans une perspective de respect et de bien-être de l'animal. En effet, le manque de connaissance du grand public en matière de cognition équine peut induire dans la pratique un usage approximatif, voire erroné, des principes de l'apprentissage et conduire à un manque de clarté des ordres donnés au cheval ou encore à un mauvais usage des renforcements, provoquant potentiellement une situation de mal-être chez le cheval ou un échec de l'apprentissage (Hausberger et al. 2008; Murphy et Arkins 2007).

L'application sur le terrain de nos études sur le tempérament peut prendre plusieurs formes. Tout d'abord, il est possible de sélectionner au moment de l'achat d'un cheval sur la base de son tempérament et, donc, en fonction de ses atouts possibles en termes de performances cognitives. Un cheval peureux par exemple, pourrait être plus réactifs à certaines pressions

(stress intrinsèques) et donc potentiellement bien adapté à une équitation fine et bien canalisée. Cependant, il pourrait être facilement perturbé par différents facteurs de stress et être potentiellement plus automatiques dans ses réponses (ce qui peut être un atout). Nos résultats concernant la dimension de sensibilité tactile sont également intéressants pour la sélection. En effet, sur le terrain, de nombreuses commandes utilisées sont de nature tactile (ex. placement de la jambe à un endroit précis), de même que la plupart des renforcements négatifs utilisés (ex. forte pression de jambe, utilisation d'éperons ou encore tension au niveau des rênes). Un haut niveau de sensibilité pourrait être un atout pour un cheval destiné à un niveau de dressage assez fin et élaboré. Au contraire, un faible niveau de sensibilité tactile pourrait être intéressant pour des chevaux d'instruction. En effet, une fois qu'une tâche leur aura été correctement apprise, ces chevaux pourraient être plus résistants à l'extinction et donc persévérer davantage dans leurs réponses lorsqu'ils seront montés par des cavaliers débutants potentiellement imprécis dans l'utilisation des signaux émis au cheval et des renforcements.

A partir de la caractérisation du tempérament d'un cheval donné, il est également possible de personnaliser les méthodes d'entraînement s'inspirant des résultats obtenus expérimentalement, en plus des recommandations d'ordre général qui peuvent être énoncées. Les facteurs de stress extrinsèques potentiels sont multiples du point de vue du cheval. Ainsi, au vue de l'effet délétère d'un état de stress dû à un épisode de stress extrinsèque sur les performances d'acquisition, nous pouvons recommander aux cavaliers d'éviter de manière générale d'exposer leurs chevaux à des stress extérieurs lorsqu'ils souhaitent les entraîner, à la fois pendant le travail, mais également juste avant ou juste après. Cela implique par exemple d'éviter de transporter le cheval en van immédiatement après une séance de travail ou de le doucher s'il manifeste des réactions de peur face à cette situation. Ces recommandations sont d'autant plus vraies que le cheval a un tempérament peureux. Au contraire, après le travail, il semble préférable de placer son cheval dans son environnement habituel, non isolé (ex. au pré avec ses congénères), ce qui va à l'encontre de certaines recommandations empiriques préconisant d'enfermer le cheval seul au box après le travail afin de favoriser la mémorisation.

L'excellente capacité de mémoire à très long-terme des chevaux implique que les cavaliers doivent être vigilants vis-à-vis de ce qu'apprennent leurs chevaux et ce à quoi ils sont soumis

(ex. expérience négative), dans la mesure où la trace mnésique sera potentiellement très durable. Au contraire, les performances de mémoire de travail chez le cheval semblent avoir une durée limitée par rapport à d'autres espèces (au moins pour les items alimentaires) et sont fortement perturbées en cas de stress. Les cavaliers doivent donc être vigilants quant à la contiguïté temporelle des différents événements qui surviennent et que le cheval est censé associer pour apprendre (ex. ordre « trotte » + une pression de jambe → le cheval part au trot → le cavalier cesse la pression de jambe), en particulier en cas de stress et ce, d'autant plus pour les chevaux au tempérament peureux. (ex. nouveau manège, nouveaux chevaux à l'écurie...). Si l'enchaînement des événements est trop demandeur en terme de mémoire de travail et dépasse les capacités mnésiques du cheval, l'animal peut se retrouver dans une situation d'inconfort où il est incapable d'apprendre ce qui lui est demandé (Murphy et Arkins 2007).

Conclusion

Ce travail de thèse s'inscrit dans un champ d'études en pleine expansion qui vise à appréhender et comprendre les liens entre tempérament et cognition (Reale et al. 2007; Sih et Del Giudice 2012; Carere et Locurto 2011). A l'échelle du modèle équin, ce travail a permis de caractériser les relations entre cinq dimensions de tempérament et les performances cognitives dans le cadre d'apprentissages instrumentaux et de tests de mémoire de travail. Conformément à notre hypothèse de départ, nous avons montré que le stress est un modulateur des relations entre tempérament et performances cognitives. Ceci est particulièrement vrai pour la dimension de peur, qui constitue la dimension de tempérament qui ressort le plus à travers toutes nos études. L'effet de la peur sur les performances est positif en cas de stress intrinsèque, et souvent négatif, en cas d'absence de stress ou de stress extrinsèque. De manière général, nous observons que la dimension de peur amplifie l'effet du stress, qu'il soit positif (stress intrinsèque) ou négatif (stress extrinsèque). Ce travail de thèse permet donc de contribuer à la compréhension des apparentes contradictions de la littérature concernant l'effet de la dimension de peur sur les performances d'apprentissage et de mémoire. Dans une moindre mesure, la dimension d'activité locomotrice est également ressortie régulièrement au cours de nos analyses. Son influence est toujours positive et ne ressort qu'en cas de stress (extrinsèque ou intrinsèque). Les autres dimensions de tempérament sont peu reliées aux différences de performances cognitives.

D'un point de vue fondamental, l'ensemble de ces travaux permet donc de constituer une base pour poursuivre l'exploration des liens entre tempérament et performances cognitives chez le cheval, avec une vision large qui prend en compte les différents niveaux de stress modulant la façon dont le comportement d'un individu va être influencé par son tempérament.

D'un point de vue appliqué, ce travail nous a permis de constater qu'il n'y a pas de « bons » ou de « mauvais » tempérament, mais que chaque tempérament peut être associé à un certain nombre de points forts et de points faibles en terme d'apprentissage, de mémoire, voire même de flexibilité cognitive. Ces connaissances peuvent servir de base à la fois lors de la sélection des chevaux, et lors de la personnalisation des méthodes d'éducation.

Bibliographie

- Abbott DH, Keverne EB, Bercovitch FB, Shively CA, Medoza SP, Saltzman W, Snowdon CT, Ziegler TE, Banjevic M, Garland T, Sapolsky RM (2003) Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Horm Behav* 43 (1):67-82. doi:10.1016/s0018-506x(02)00037-5
- Adams CD, Dickinson A (1981) Instrumental responding following reinforcer devaluation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B-Comparative and Physiological Psychology* 33 (MAY):109-121
- Ahrendt LP, Christensen JW, Ladewig J (2012) The ability of horses to learn an instrumental task through social observation. *Appl Anim Behav Sci* 139 (1-2):105-113. doi:10.1016/j.applanim.2012.03.004
- Akirav I, Sandi C, Richter-Levin G (2001) Differential activation of hippocampus and amygdala following spatial learning under stress. *Eur J Neurosci* 14 (4):719-725. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01687.x
- Alexander JK, Hillier A, Smith RM, Tivarus ME, Beversdorf DQ (2007) Beta-adrenergic modulation of cognitive flexibility during stress. *Journal of Cognitive Neuroscience* 19 (3):468-478. doi:10.1162/jocn.2007.19.3.468
- Allport GW (1937) *Personality: a psychological interpretation*. H. Holt and Company,
- Amy M, van Oers K, Naguib M (2012) Worms under cover: relationships between performance in learning tasks and personality in great tits (*Parus major*). *Anim Cogn* 15 (5):763-770. doi:10.1007/s10071-012-0500-3
- Anderson MK, Friend TH, Evans JW, Bushong DM (1999) Behavioral assessment of horses in therapeutic riding programs. *Appl Anim Behav Sci* 63 (1):11-24. doi:10.1016/s0168-1591(98)00237-8
- Arnsten AFT (1998) Research: Neuroscience - The biology of being frazzled. *Science* 280 (5370):1711-1712. doi:10.1126/science.280.5370.1711
- Bachmann I, Bernasconi P, Herrmann R, Weishaupt MA, Stauffacher M (2003) Behavioural and physiological responses to an acute stressor in crib-biting and control horses. *Appl Anim Behav Sci* 82 (4):297-311. doi:10.1016/s0168-1591(03)00086-8
- Balda RP, Kamil AC (1998) The ecology and evolution of spatial memory in corvids of the southwestern USA: The Perplexing Pinyon Jay. In: Balda RP, Pepperberg IM, Kamil AC (eds) *Animal Cognition in Nature: The Convergence of Psychology and Biology in Laboratory and Field*. Academic Press, New-York, pp 26-64
- Baldi E, Bucherelli C (2005) The inverted "u-shaped" dose-effect relationships in learning and memory: modulation of arousal and consolidation. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 3 (1):9-21. doi:10.2201/nonlin.003.01.002
- Balleine BW, Dickinson A (1998) Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37 (4-5):407-419. doi:10.1016/s0028-3908(98)00033-1
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003) The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23 (2):666-675
- Baragli P, Paoletti E, Vitale V, Sighieri C (2011) Looking in the correct location for a hidden object: brief note about the memory of donkeys (*Equus asinus*). *Ethol Ecol Evol* 23 (2):187-192. doi:10.1080/03949370.2011.554885
- Bard KA, Gardner KH (1996) Influences on development in infant chimpanzees: Enculturation, temperament, and cognition. In: Russon AE, Bard KA, Parker ST (eds)

- Reaching into thought: The minds of the great apes. Cambridge University Press, Cambridge, pp 235-256
- Barnard CJ, Luo N (2002) Acquisition of dominance status affects maze learning in mice. *Behav Process* 60 (1):53-59. doi:10.1016/s0376-6357(02)00121-3
- Bates JE (1989) Concepts and measures of temperament. In: Kohnstamm GA, Bates JE, Rothbart MK (eds) *Temperament in Childhood*. Wiley, New York, pp 3-26
- Beck KD, Jiao X, Ricart TM, Myers CE, Minor TR, Pang KCH, Servatius RJ (2011) Vulnerability factors in anxiety: Strain and sex differences in the use of signals associated with non-threat during the acquisition and extinction of active-avoidance behavior. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35 (7):1659-1670. doi:10.1016/j.pnpbp.2011.05.002
- Beck KD, Jiao XL, Pang KCH, Servatius RJ (2010) Vulnerability factors in anxiety determined through differences in active-avoidance behavior. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 34 (6):852-860. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.03.036
- Bell AM, Hankison SJ, Laskowski KL (2009) The repeatability of behaviour: a meta-analysis. *Anim Behav* 77 (4):771-783. doi:10.1016/j.anbehav.2008.12.022
- Bentosela M, Barrera G, Jakovcevic A, Elgier AM, Mustaca AE (2008) Effect of reinforcement, reinforcer omission and extinction on a communicative response in domestic dogs (*Canis familiaris*). *Behavioural Processes* 78 (3):464-469. doi:10.1016/j.beproc.2008.03.004
- Bergamasco L, Osella MC, Savarino P, Larosa G, Ozella L, Manassero M, Badino P, Odore R, Barbero R, Re G (2010) Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: Human-animal interaction effects. *Appl Anim Behav Sci* 125 (1-2):56-68. doi:10.1016/j.applanim.2010.03.002
- Bogale BA, Kamata N, Mioko K, Sugita S (2011) Quantity discrimination in jungle crows, *Corvus macrorhynchos*. *Anim Behav* 82 (4):635-641. doi:10.1016/j.anbehav.2011.05.025
- Bogale BA, Sugawara S, Sakano K, Tsuda S, Sugita S (2012) Long-term memory of color stimuli in the jungle crow (*Corvus macrorhynchos*). *Anim Cogn* 15 (2):285-291. doi:10.1007/s10071-011-0439-9
- Boivin X, Nowak R, Garcia AT (2001) The presence of the dam affects the efficiency of gentling and feeding on the early establishment of the stockperson-lamb relationship. *Appl Anim Behav Sci* 72 (2):89-103. doi:10.1016/s0168-1591(00)00201-x
- Bokony V, Kulcsar A, Toth Z, Liker A (2012) Personality Traits and Behavioral Syndromes in Differently Urbanized Populations of House Sparrows (*Passer domesticus*). *Plos One* 7 (5). doi:e3663910.1371/journal.pone.0036639
- Boulay J, Chaillou E, Bertin A, Constantin P, Arnould C, Leterrier C, Calandreau L (2013) A higher inherent trait for fearfulness is associated with increased anxiety-like behaviours and diazepam sensitivity in Japanese quail. *Behav Brain Res* 237:124-128. doi:10.1016/j.bbr.2012.09.026
- Bouton ME (2007) *Learning and Behavior: A Contemporary Synthesis*. Sinauer Associates, Publishers,
- Brenhouse HC, Andersen SL (2011) Nonsteroidal Anti-Inflammatory Treatment Prevents Delayed Effects of Early Life Stress in Rats. *Biol Psychiatry* 70 (5):434-440. doi:10.1016/j.biopsych.2011.05.006
- Breuer K, Hemsworth PH, Coleman GJ (2003) The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. *Appl Anim Behav Sci* 84 (1):3-22. doi:10.1016/s0168-1591(03)00146-1

- Briffa M, Rundle SD, Fryer A (2008) Comparing the strength of behavioural plasticity and consistency across situations: animal personalities in the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 275 (1640):1305-1311. doi:10.1098/rspb.2008.0025
- Briffa M, Weiss A (2010) Animal personality. *Curr Biol* 20 (21):R912-R914. doi:10.1016/j.cub.2010.09.019
- Brinks V, van der Mark M, de Kloet R, Oitzl M (2007) Emotion and cognition in high and low stress sensitive mouse strains: a combined neuroendocrine and behavioral study in BALB/c and C57BL/6J mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 1. doi:810.3389/neuro.08/008.2007
- Broadhurst PL (1975) The Maudsley Reactive and Nonreactive strains of rats: A survey. *Behav Genet* 5 (4):299-319. doi:10.1007/bf01073201
- Brush FR (2003) Selection for differences in avoidance learning: The Syracuse strains differ in anxiety, not learning ability. *Behav Genet* 33 (6):677-696. doi:10.1023/a:1026135231594
- Brush FR, Baron S, Froehlich JC, Ison JR, Pellegrino LJ, Phillips DS, Sakellaris PC, Williams VN (1985) Genetic-differences in avoidance-learning by *rattus-norvegicus* - escape avoidance responding, sensitivity to electric-shock, discrimination-learning, and open-field behavior. *J Comp Psychol* 99 (1):60-73. doi:10.1037/0735-7036.99.1.60
- Buckley P, Dunn T, More SJ (2004) Owners' perceptions of the health and performance of Pony Club horses in Australia. *Prev Vet Med* 63 (1-2):121-133. doi:10.1016/j.prevetmed.2004.01.013
- Budaev SV (1997) "Personality" in the guppy (*Poecilia reticulata*): A correlational study of exploratory behavior and social tendency. *J Comp Psychol* 111 (4):399-411. doi:10.1037/0735-7036.111.4.399
- Budaev SV, Zhuikov AY (1998) Avoidance learning and "personality" in the guppy (*Poecilia reticulata*). *J Comp Psychol* 112 (1):92-94. doi:10.1037/0735-7036.112.1.92
- Burdyn LE, Noble LM, Shreves LE, Thomas RK (1984) Long-term memory for concepts by squirrel-monkeys. *Physiological Psychology* 12 (2):97-102
- Butts KA, Weinberg J, Young AH, Phillips AG (2011) Glucocorticoid receptors in the prefrontal cortex regulate stress-evoked dopamine efflux and aspects of executive function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 (45):18459-18464. doi:10.1073/pnas.1111746108
- Calandreau L, Favreau-Peigne A, Bertin A, Constantin P, Arnould C, Laurence A, Lumineau S, Houdelier C, Richard-Yris MA, Boissy A, Leterrier C (2011) Higher inherent fearfulness potentiates the effects of chronic stress in the Japanese quail. *Behav Brain Res* 225 (2):505-510. doi:10.1016/j.bbr.2011.08.010
- Campler M, Jöngren M, Jensen P (2009) Fearfulness in red junglefowl and domesticated White Leghorn chickens. *Behav Process* 81 (1):39-43
- Carere C, Caramaschi D, Fawcett TW (2010) Covariation between personalities and individual differences in coping with stress: Converging evidence and hypotheses. *Current Zoology* 56 (6):728-740
- Carere C, Locurto C (2011) Interaction between animal personality and animal cognition. *Current Zoology* 57 (4):491-498
- Cazakoff BN, Johnson KJ, Howland JG (2010) Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents: A review of recent behavioural and

- pharmacological findings. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 34 (5):733-741. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.04.002
- Chen ZJ, Cowan N (2009) Core verbal working-memory capacity: The limit in words retained without covert articulation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* 62 (7):1420-1429. doi:10.1080/17470210802453977
- Christensen JW, Ahrendt LP, Lintrup R, Gaillard C, Palme R, Malmkvist J (2012) Does learning performance in horses relate to fearfulness, baseline stress hormone, and social rank? *Appl Anim Behav Sci* 140 (1-2):44-52. doi:10.1016/j.applanim.2012.05.003
- Clayton NS, Dickinson A (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* 395 (6699):272-274. doi:10.1038/26216
- Clutton-Brock J (1981) *Domesticated animals from early times*. University of Texas Press, Austin
- Cockrem JF (2007) Stress, corticosterone responses and avian personalities. *Journal of Ornithology* 148:S169-S178. doi:10.1007/s10336-007-0175-8
- Cockrem JF (2013) Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals. *Gen Comp Endocrinol* 181:45-58. doi:10.1016/j.ygcen.2012.11.025
- Cohen NJ, Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia - dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210 (4466):207-210. doi:10.1126/science.7414331
- Coleman K, Tully LA, McMillan JL (2005) Temperament correlates with training success in adult rhesus macaques. *Am J Primatol* 65 (1):63-71. doi:10.1002/ajp.20097
- Coleman K, Wilson DS (1998) Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Anim Behav* 56:927-936. doi:10.1006/anbe.1998.0852
- Conrad CD (2005) The relationship between acute glucocorticoid levels and hippocampal function depends upon task aversiveness and memory processing stage. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 3 (1):57-78. doi:10.1080/15401420490900245
- Conrad CD (2010) A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 34 (5):742-755. doi:10.1016/j.pnpbp.2009.11.003
- Corbit LH, Balleine BW (2003) The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146 (1-2):145-157. doi:10.1016/j.bbr.2003.09.023
- Costa PT, Jr, McCrae RR (1992) Four ways five factors are basic. *Personality and Individual Differences* 13 (6):653-665. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0191-8869\(92\)90236-I](http://dx.doi.org/10.1016/0191-8869(92)90236-I)
- Coutellier L, Friedrich A-C, Failing K, Marashi V, Würbel H (2008) Effects of rat odour and shelter on maternal behaviour in C57BL/6 dams and on fear and stress responses in their adult offspring. *Physiol Behav* 94 (3):393-404
- Coutureau E, Killcross S (2003) Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats. *Behav Brain Res* 146 (1-2):167-174. doi:10.1016/j.bbr.2003.09.025
- Curley KO, Neuendorff DA, Lewis AW, Cleere JJ, Welsh TH, Randel RD (2008) Functional characteristics of the bovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament. *Horm Behav* 53 (1):20-27. doi:10.1016/j.yhbeh.2007.08.005
- Dall SRX, Bell AM, Bolnick DI, Ratnieks FLW (2012) An evolutionary ecology of individual differences. *Ecol Lett* 15 (10):1189-1198. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01846.x
- Dalla C, Shors TJ (2009) Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiol Behav* 97 (2):229-238. doi:10.1016/j.physbeh.2009.02.035

- Darrow PA, Shivik JA (2009) Bold, shy, and persistent: Variable coyote response to light and sound stimuli. *Appl Anim Behav Sci* 116 (1):82-87. doi:10.1016/j.applanim.2008.06.013
- Davis JF, Krause EG, Melhorn SJ, Sakai RR, Benoit SC (2009) Dominant rats are natural risk takers and display increased motivation for food reward. *Neuroscience* 162 (1):23-30
- Defries JC, Gervais MC, Thomas EA (1978) Response to 30 generations of selection for open-field activity in laboratory mice. *Behav Genet* 8 (1):3-13. doi:10.1007/bf01067700
- Delacour J (1998) Une Introduction aux neurosciences cognitives. De Boeck Université,
- Deppe AM, Wright PC, Szelistowski WA (2009) Object permanence in lemurs. *Anim Cogn* 12 (2):381-388. doi:10.1007/s10071-008-0197-5
- Destrez A, Deiss V, Leterrier C, Boivin X, Boissy A (2013) Long-term exposure to unpredictable and uncontrollable aversive events alters fearfulness in sheep. *Animal* 7 (3):476-484. doi:10.1017/s1751731112001796
- Diamond DM (2005) Cognitive, endocrine and mechanistic perspectives on non-linear relationships between arousal and brain function. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 3 (1):1-7. doi:10.2201/nonlin.003.01.001
- Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Woodson JC, Conrad CD, Bachstetter AD, Mervis RF (2006) Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16 (7):571-576. doi:10.1002/hipo.20188
- 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 (5):542-552. doi:10.1002/(sici)1098-1063(1999)9:5<542::aid-hipo8>3.0.co;2-n
- Dias-Ferreira E, Sousa JC, Melo I, Morgado P, Mesquita AR, Cerqueira JJ, Costa RM, Sousa N (2009) Chronic Stress Causes Frontostriatal Reorganization and Affects Decision-Making. *Science* 325 (5940):621-625. doi:10.1126/science.1171203
- Dickinson A (1985) Actions and habits: the development of behavioural autonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 308 (1135):67-78. doi:10.1098/rstb.1985.0010
- Dickinson A, Balleine B, Watt A, Gonzalez F, Boakes RA (1995) Motivational control after extended instrumental training. *Anim Learn Behav* 23 (2):197-206. doi:10.3758/bf03199935
- Digman JM (1990) Personality Structure: Emergence of the Five-Factor Model. *Annu Rev Psychol* 41 (1):417-440. doi:10.1146/annurev.ps.41.020190.002221
- Dillon GM, Qu XL, Marcus JN, Dodart JC (2008) Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice. *Neurobiol Learn Mem* 90 (2):426-433. doi:10.1016/j.nlm.2008.05.008
- Dingemans NJ, Kazem AJN, Reale D, Wright J (2010) Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends Ecol Evol* 25 (2):81-89. doi:10.1016/j.tree.2009.07.013
- Drea CM, Wallen K (1999) Low-status monkeys "play dumb" when learning in mixed social groups. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (22):12965-12969. doi:10.1073/pnas.96.22.12965
- Dudchenko PA (2004) An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 28 (7):699-709
- Dugatkin LA, Alfieri MS (2003) Boldness, behavioral inhibition and learning. *Ethol Ecol Evol* 15 (1):43-49

- Dukas R (1999) Costs of memory: Ideas and predictions. *J Theor Biol* 197 (1):41-50. doi:10.1006/jtbi.1998.0856
- Dukas R (2002) Behavioural and ecological consequences of limited attention. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 357 (1427):1539-1547. doi:10.1098/rstb.2002.1063
- Easterbrook JA (1959) The effect of emotion on cue utilization and the organization of behavior. *Psychol Rev* 66 (3):183-201. doi:10.1037/h0047707
- Easton A, Parker K, Derrington AM, Parker A (2003) Behaviour of marmoset monkeys in a T-maze: comparison with rats and macaque monkeys on a spatial delayed non-match to sample task. *Exp Brain Res* 150 (1):114-116. doi:10.1007/s00221-003-1409-5
- Eibl-Eibesfeldt I (1984) *Éthologie: Biologie du comportement*. Ed. scientifiques Naturalia et Biologia,
- Erhard HW, Mendl M (1997) Measuring aggressiveness in growing pigs in a resident-intruder situation. *Appl Anim Behav Sci* 54 (2-3):123-136. doi:10.1016/s0168-1591(97)00069-5
- Erhard HW, Mendl M, Ashley DD (1997) Individual aggressiveness of pigs can be measured and used to reduce aggression after mixing. *Appl Anim Behav Sci* 54 (2-3):137-151. doi:10.1016/s0168-1591(97)00068-3
- Evans J, Boudreau K, Hyman J (2010) Behavioural Syndromes in Urban and Rural Populations of Song Sparrows. *Ethology* 116 (7):588-595. doi:10.1111/j.1439-0310.2010.01771.x
- Eysenck MW (1995) Attention. In: French CC, Colman AM (eds) *Cognitive Psychology*. Longman, London, pp 22–38
- Feeney MC, Roberts WA, Sherry DF (2009) Memory for what, where, and when in the black-capped chickadee (*Parus atricapillus*). *Anim Cogn* 12 (6):767-777. doi:10.1007/s10071-009-0236-x
- Fiset S, Beaulieu C, Landry F (2003) Duration of dogs' (*Canis familiaris*) working memory in search for disappearing objects. *Anim Cogn* 6 (1):1-10. doi:10.1007/s10071-002-0157-4
- Fiset S, Dore FY (2006) Duration of cats' (*Felis catus*) working memory for disappearing objects. *Anim Cogn* 9 (1):62-70. doi:10.1007/s10071-005-0005-4
- Fiske JC, Potter GD (1979) Discrimination reversal-learning in yearling horses. *J Anim Sci* 49 (2):583-588
- Fitchett AE, Collins SA, Barnard CJ, Cassaday HJ (2005) Subordinate male mice show long-lasting differences in spatial learning that persist when housed alone. *Neurobiol Learn Mem* 84 (3):247-251. doi:10.1016/j.nlm.2005.08.004
- Folkedal O, Torgersen T, Olsen RE, Fernö A, Nilsson J, Oppedal F, Stien LH, Kristiansen TS, Fernö A (2012) Duration of effects of acute environmental changes on food anticipatory behaviour, feed intake, oxygen consumption, and cortisol release in Atlantic salmon parr. *Physiol Behav* 105 (2):283-291. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.07.015>
- Fortin M, Valençon M, Lévy F, Calandreau L, Leterrier C, Lansade L Learning in a place previously associated with negative or positive events influence cognitive flexibility during instrumental behaviour, in interaction with temperament. En préparation
- Freeman HD, Gosling SD (2010) Personality in Nonhuman Primates: A Review and Evaluation of Past Research. *Am J Primatol* 72 (8):653-671. doi:10.1002/ajp.20833

- Fureix C, Jego P, Sankey C, Hausberger M (2009) How horses (*Equus caballus*) see the world: humans as significant "objects". *Anim Cogn* 12 (4):643-654. doi:10.1007/s10071-009-0223-2
- Gabor V, Gerken M (2012) Cognitive testing in horses using a computer based apparatus. *Appl Anim Behav Sci* 139 (3-4):242-250. doi:10.1016/j.applanim.2012.04.010
- Garner JP, Mason GJ (2002) Evidence for a relationship between cage stereotypies and behavioural disinhibition in laboratory rodents. *Behav Brain Res* 136 (1):83-92. doi:10.1016/s0166-4328(02)00111-0
- Garner JP, Meehan CL, Mench JA (2003) Stereotypies in caged parrots, schizophrenia and autism: evidence for a common mechanism. *Behav Brain Res* 145 (1-2):125-134. doi:10.1016/s0166-4328(03)00115-3
- Gartner MC, Weiss A (2013) Personality in felids: A review. *Appl Anim Behav Sci* 144 (1-2):1-13. doi:10.1016/j.applanim.2012.11.010
- Gold KC, Maple TL (1994) Personality-assessment in the gorilla and its utility as a management tool. *Zoo Biol* 13 (5):509-522. doi:10.1002/zoo.1430130513
- Goldberg LR (1990) An alternative "description of personality": the big-five factor structure. *J Pers Soc Psychol* 59 (6):1216-1229
- Goldsmith HH, Buss AH, Plomin R, Rothbart MK, Thomas A, Chess S, Hinde RA, McCall RB (1987) Round table - what is temperament 4 approaches. *Child Dev* 58 (2):505-529. doi:10.1111/j.1467-8624.1987.tb01398.x
- Gosling SD (2001) From mice to men: What can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin* 127 (1):45-86. doi:10.1037//0033-2909.127.1.45
- Gosling SD, Bonnenburg AV (1998) An integrative approach to personality research in anthrozoology: Ratings of six species of pets and their owners. *Anthrozoos* 11 (3):148-156
- Gosling SD, John OP (1999) Personality dimensions in nonhuman animals: A cross-species review. *Current Directions in Psychological Science* 8 (3):69-75. doi:10.1111/1467-8721.00017
- Graybeal C, Kiselycznyk C, Holmes A (2012) Stress-induced impairments in prefrontal-mediated behaviors and the role of the n-methyl-d-aspartate receptor. *Neuroscience* 211:28-38. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.02.042
- Greiveldinger L, Veissier I, Boissy A (2009) Behavioural and physiological responses of lambs to controllable vs. uncontrollable aversive events. *Psychoneuroendo* 34 (6):805-814. doi:10.1016/j.psyneuen.2008.10.025
- Guesdon V, Ligout S, Delagrangé P, Spedding M, Levy F, Laine AL, Malpoux B, Chaillou E (2012) Multiple exposures to familiar conspecific withdrawal is a novel robust stress paradigm in ewes. *Physiol Behav* 105 (2):203-208. doi:10.1016/j.physbeh.2011.08.011
- Guillette LM, Reddon AR, Hoeschele M, Sturdy CB (2011) Sometimes slower is better: slow-exploring birds are more sensitive to changes in a vocal discrimination task. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 278 (1706):767-773. doi:10.1098/rspb.2010.1669
- Guillette LM, Reddon AR, Hurd PL, Sturdy CB (2009) Exploration of a novel space is associated with individual differences in learning speed in black-capped chickadees, *Poecile atricapillus*. *Behav Process* 82 (3):265-270. doi:10.1016/j.beproc.2009.07.005
- Hagen K, Broom DM (2004) Emotional reactions to learning in cattle. *Appl Anim Behav Sci* 85 (3-4):203-213. doi:10.1016/j.applanim.2003.11.007

- Hall CS (1934) Emotional behavior in the rat I Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J Comp Psychol* 18 (3):385-403. doi:10.1037/h0071444
- Hamilton WD (1971) Geometry for the selfish herd. *J Theor Biol* 31 (2):295-311. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0022-5193\(71\)90189-5](http://dx.doi.org/10.1016/0022-5193(71)90189-5)
- Hanggi EB (1999) Categorization learning in horses (*Equus caballus*). *J Comp Psychol* 113 (3):243-252. doi:10.1037//0735-7036.113.3.243
- Hanggi EB (2010) Short-term Memory Testing in Domestic Horses: Experimental Design Plays a Role. *J Equine Vet Sci* 30 (11):617-623
- Hanggi EB, Ingersoll JF (2009) Long-term memory for categories and concepts in horses (*Equus caballus*). *Anim Cogn* 12 (3):451-462. doi:10.1007/s10071-008-0205-9
- Hare B, Melis AP, Woods V, Hastings S, Wrangham R (2007) Tolerance allows bonobos to outperform chimpanzees on a cooperative task. *Curr Biol* 17 (7):619-623. doi:10.1016/j.cub.2007.02.040
- Harewood EJ, McGowan CM (2005) Behavioral and physiological responses to stabling in naive horses. *J Equine Vet Sci* 25 (4):164-170. doi:10.1016/j.jevs.2005.03.008
- Harris AP, D'Eath RB, Healy SD (2010) A cage without a view increases stress and impairs cognitive performance in rats. *Anim Welf* 19 (3):235-241
- Hartmann E, Sondergaard E, Keeling LJ (2012) Keeping horses in groups: A review. *Appl Anim Behav Sci* 136 (2-4):77-87. doi:10.1016/j.applanim.2011.10.004
- Haupt M, Eccard JA, Winter Y (2010) Does spatial learning ability of common voles (*Microtus arvalis*) and bank voles (*Myodes glareolus*) constrain foraging efficiency? *Anim Cogn* 13 (6):783-791. doi:10.1007/s10071-010-0327-8
- Hausberger M, Bruderer U, Le Scolan N, Pierre JS (2004) Interplay between environmental and genetic factors in temperament/personality traits in horses (*Equus caballus*). *J Comp Psychol* 118 (4):434-446. doi:10.1037/0735-7036.118.4.434
- Hausberger M, Gautier E, Muller C, Jengo P (2007) Lower learning abilities in stereotypic horses. *Appl Anim Behav Sci* 107 (3-4):299-306. doi:10.1016/j.applanim.2006.10.003
- Hausberger M, Roche H, Henry S, Visser EK (2008) A review of the human-horse relationship. *Appl Anim Behav Sci* 109 (1):1-24. doi:10.1016/j.applanim.2007.04.015
- Haverbeke A, Rzepa C, Depiereux E, Deroo J, Giffroy J-M, Diederich C (2010) Assessing efficiency of a Human Familiarisation and Training Programme on fearfulness and aggressiveness of military dogs. *Appl Anim Behav Sci* 123 (3-4):143-149
- Hawley WR, Grissom EM, Dohanich GP (2011) The relationships between trait anxiety, place recognition memory, and learning strategy. *Behav Brain Res* 216 (2):525-530. doi:10.1016/j.bbr.2010.08.028
- Hazard D, Leclaire S, Couty M, Guémené D (2008) Genetic differences in coping strategies in response to prolonged and repeated restraint in Japanese quail divergently selected for long or short tonic immobility. *Horm Behav* 54 (5):645-653
- Heird JC, Lennon AM, Bell RW (1981) Effects of early experience on the learning-ability of yearling horses. *J Anim Sci* 53 (5):1204-1209
- Heird JC, Lokey CE, Cogan DC (1986a) Repeatability and comparison of two maze tests to measure learning ability in horses. *Appl Anim Behav Sci* 16 (2):103-119. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0168-1591\(86\)90103-6](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1591(86)90103-6)
- Heird JC, Whitaker DD, Bell RW, Ramsey CB, Lokey CE (1986b) The effects of handling at different ages on the subsequent learning-ability of 2-year-old horses. *Appl Anim Behav Sci* 15 (1):15-25. doi:10.1016/0168-1591(86)90018-3

- Heleski C, Bauson L, Bello N (2008) Evaluating the addition of positive reinforcement for learning a frightening task: A pilot study with horses. *J Appl Anim Welf Sci* 11 (3):213-222. doi:10.1080/10888700802100942
- Heleski CR, Shelle AC, Nielsen BD, Zanella AJ (2002) Influence of housing on weanling horse behavior and subsequent welfare. *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):291-302. doi:10.1016/s0168-1591(02)00108-9
- Hemmings A, McBride SD, Hale CE (2007) Perseverative responding and the aetiology of equine oral stereotypy. *Appl Anim Behav Sci* 104 (1-2):143-150. doi:10.1016/j.applanim.2006.04.031
- Hemsworth PH, Barnett JL, Hansen C (1987) The influence of inconsistent handling by humans on the behavior, growth and corticosteroids of young-pigs. *Appl Anim Behav Sci* 17 (3-4):245-252. doi:10.1016/0168-1591(87)90149-3
- Hendriksen P, Elmgreen K, Ladewig J (2011) Trailer-loading of horses: Is there a difference between positive and negative reinforcement concerning effectiveness and stress-related signs? *Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research* 6 (5):261-266. doi:10.1016/j.jveb.2011.02.007
- Hennessy KD, Quinn KM, Murphy J (2008) Producer or purchaser: Different expectations may lead to equine wastage and welfare concerns. *J Appl Anim Welf Sci* 11 (3):232-235. doi:10.1080/10888700802101023
- Henry S, Richard-Yris MA, Hausberger M (2006) Influence of various early human-foal interferences on subsequent human-foal relationship. *Dev Psychobiol* 48 (8):712-718. doi:10.1002/dev.20189
- Herrero AI, Sandi C, Venero C (2006) Individual differences in anxiety trait are related to spatial learning abilities and hippocampal expression of mineralocorticoid receptors. *Neurobiol Learn Mem* 86 (2):150-159. doi:10.1016/j.nlm.2006.02.001
- Heydemann P, Grosbois F (2006) *Marché du cheval de selle en France en 2005 : les critères de choix des équidés achetés*. *Fiches technique de l'IFCE*.
- Holmes A, Wellman CL (2009) Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 33 (6):773-783. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.11.005
- Honig WK (1978) Studies of working memory in the pigeon. In: Hulse SH, Fowler H, Honig WK (eds) *Cognitive processes in animal behavior*. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ, pp 211-248
- Hunter WS (1913) The delayed reaction in animals and children. *Behavior monographs* 2:1-86
- Huntingford FA (1976) The relationship between anti-predator behaviour and aggression among conspecifics in the three-spined stickleback, *Gasterosteus Aculeatus*. *Anim Behav* 24 (2):245-260. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(76\)80034-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(76)80034-6)
- Ijichi C, Collins L, Creighton E, Elwood R (2013) Harnessing the power of personality assessment: Subjective assessment predicts behaviour in horses. *Behav Process* (0). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2013.02.017>
- Janitzky K, Schwegler H, Kröber A, Roskoden T, Yanagawa Y, Linke R (2011a) Species-relevant inescapable stress differently influences memory consolidation and retrieval of mice in a spatial radial arm maze. *Behav Brain Res* 219 (1):142-148. doi:10.1016/j.bbr.2010.12.032
- Janitzky K, Schwegler H, Kroeber A, Roskoden T, Yanagawa Y, Linke R (2011b) Species-relevant inescapable stress differently influences memory consolidation and retrieval

- of mice in a spatial radial arm maze. *Behav Brain Res* 219 (1):142-148. doi:10.1016/j.bbr.2010.12.032
- Jansen T, Forster P, Levine MA, Oelke H, Hurler M, Renfrew C, Weber J, Olek K (2002) Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 (16):10905-10910. doi:10.1073/pnas.152330099
- Jeziński T, Jaworski Z, Gorecka A (1999) Effects of handling on behaviour and heart rate in Konik horses: comparison of stable and forest reared youngstock. *Appl Anim Behav Sci* 62 (1):1-11. doi:10.1016/S0168-1591(98)00209-3
- Jiao XL, Pang KCH, Beck KD, Minor TR, Servatius RJ (2011) Avoidance perseveration during extinction training in Wistar-Kyoto rats: An interaction of innate vulnerability and stressor intensity. *Behav Brain Res* 221 (1):98-107. doi:10.1016/j.bbr.2011.02.029
- Joels M, Baram TZ (2009) OPINION The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci* 10 (6):459-U484. doi:10.1038/nrn2632
- Joëls M, Fernandez G, Roozendaal B (2011) Stress and emotional memory: a matter of timing. *Trends Cogn Sci* 15 (6):280-288. doi:10.1016/j.tics.2011.04.004
- Joëls M, Pu Z, Wiegert O, Oitzl MS, Krugers HJ (2006) Learning under stress: how does it work? *Trends Cogn Sci* 10 (4):152-158
- John OP (1990) Effect of differential rearing on the behavioral and adrenocortical response of lambs to a novel environment. In: Pervin LA (ed) *Effect of differential rearing on the behavioral and adrenocortical response of lambs to a novel environment*. Guilford Press, New-York, pp 66-100
- Johnson CK, Davis RT (1973) Seven-year retention of oddity learning set in monkeys. *Perceptual and Motor Skills* 37 (3):920-922
- Jones AC, Gosling SD (2005) Temperament and personality in dogs (*Canis familiaris*): A review and evaluation of past research. *Appl Anim Behav Sci* 95 (1-2):1-53. doi:10.1016/j.applanim.2005.04.008
- Jones RB, Andrew RJ (1992) Responses of adult domestic cocks and capons to novel and alarming stimuli. *Behav Process* 26 (2-3):189-199. doi:10.1016/0376-6357(92)90013-4
- Jones RB, Mills AD, Faure JM (1991) Genetic and experiential manipulation of fear-related behavior in japanese-quail chicks (*coturnix-coturnix-japonica*). *J Comp Psychol* 105 (1):15-24. doi:10.1037//0735-7036.105.1.15
- Jongman EC, Bidstrup I, Hemsworth PH (2005) Behavioural and physiological measures of welfare of pregnant mares fitted with a novel urine collection device. *Appl Anim Behav Sci* 93 (1-2):147-163. doi:10.1016/j.applanim.2004.12.005
- Kaplan GB, Moore KA (2011) The use of cognitive enhancers in animal models of fear extinction. *Pharmacol Biochem Behav* 99 (2):217-228. doi:10.1016/j.pbb.2011.01.009
- Kastak CR, Schusterman RJ (2002) Long-term memory for concepts in a California sea lion (*Zalophus californianus*). *Anim Cogn* 5 (4):225-232. doi:10.1007/s10071-002-0153-8
- Kendrick KM, da Costa AP, Leigh AE, Hinton MR, Peirce JW (2001) Sheep don't forget a face. *Nature* 414 (6860):165-166. doi:10.1038/35102669
- Kilgour RJ (1998) Arena behaviour is a possible selection criterion for lamb-rearing ability; it can be measured in young rams and ewes. *Appl Anim Behav Sci* 57 (1-2):81-89. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1591\(97\)00115-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1591(97)00115-9)
- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex* 13 (4):400-408. doi:10.1093/cercor/13.4.400

- King JE, Figueredo AJ (1997) The five-factor model plus dominance in chimpanzee personality. *Journal of Research in Personality* 31 (2):257-271. doi:10.1006/jrpe.1997.2179
- Koolhaas JM, de Boer SF, Coppens CM, Buwalda B (2010) Neuroendocrinology of coping styles: Towards understanding the biology of individual variation. *Front Neuroendocrinol* 31 (3):307-321. doi:10.1016/j.yfrne.2010.04.001
- Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MAW, Blokhuis HJ (1999) Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23 (7):925-935. doi:10.1016/s0149-7634(99)00026-3
- Kornum BR, Knudsen GM (2011) Cognitive testing of pigs (*Sus scrofa*) in translational biobehavioral research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35 (3):437-451. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.05.004
- Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS (2005) The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 29 (1):3-38. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.08.009
- Krebs JR, Sherry DF, Healy SD, Perry VH, Vaccarino AL (1989) Hippocampal specialization of food-storing birds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 (4):1388-1392. doi:10.1073/pnas.86.4.1388
- Krohn CC, Jago JG, Boivin X (2001) The effect of early handling on the socialisation of young calves to humans. *Appl Anim Behav Sci* 74 (2):121-133. doi:10.1016/s0168-1591(01)00161-7
- 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 (2):187-201. doi:10.1007/s10071-010-0352-7
- Langbein J, Nurnberg G, Manteuffel G (2004) Visual discrimination learning in dwarf goats and associated changes in heart rate and heart rate variability. *Physiol Behav* 82 (4):601-609. doi:10.1016/j.physbeh.2004.05.007
- Lansade L (2005) Le tempérament du cheval. Etude théorique. Application à la sélection des chevaux destinés à l'équitation. University François Rabelais of Tours, Tours
- Lansade L, Bertrand M, Boivin X, Bouissou MF (2004) Effects of handling at weaning on manageability and reactivity of foals. *Appl Anim Behav Sci* 87 (1-2):131-149. doi:10.1016/j.applanim.2003.12.011
- Lansade L, Bertrand M, Bouissou MF (2005) Effects of neonatal handling on subsequent manageability, reactivity and learning ability of foals. *Appl Anim Behav Sci* 92 (1-2):143-158. doi:10.1016/j.applanim.2004.10.014
- Lansade L, Bouissou MF (2008) Reactivity to humans: A temperament trait of horses which is stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 114 (3-4):492-508. doi:10.1016/j.applanim.2008.04.012
- Lansade L, Bouissou MF, Boivin X (2007) Temperament in preweaning horses: Development of reactions to humans and novelty, and startle responses. *Dev Psychobiol* 49 (5):501-513. doi:10.1002/dev.20233
- Lansade L, Bouissou MF, Erhard HW (2008a) Fearfulness in horses: A temperament trait stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 115 (3-4):182-200. doi:10.1016/j.applanim.2008.06.011

- Lansade L, Bouissou MF, Erhard HW (2008b) Reactivity to isolation and association with conspecifics: A temperament trait stable across time and situations. *Appl Anim Behav Sci* 109 (2-4):355-373. doi:10.1016/j.applanim.2007.03.003
- Lansade L, Pichard G, Leconte M (2008c) Sensory sensitivities: Components of a horse's temperament dimension. *Appl Anim Behav Sci* 114 (3-4):534-553. doi:10.1016/j.applanim.2008.02.012
- Lansade L, Simon F (2010) Horses' learning performances are under the influence of several temperamental dimensions. *Appl Anim Behav Sci* 125 (1-2):30-37. doi:10.1016/j.applanim.2010.02.010
- Laughlin K, Mendl M (2004) Costs of acquiring and forgetting information affect spatial memory and its susceptibility to interference. *Anim Behav* 68:97-103. doi:10.1016/j.anbehav.2003.10.019
- Lederle L, Weber S, Wright T, Feyder M, Brigman JL, Crombag HS, Saksida LM, Bussey TJ, Holmes A (2011) Reward-Related Behavioral Paradigms for Addiction Research in the Mouse: Performance of Common Inbred Strains. *Plos One* 6 (1). doi:e15536
10.1371/journal.pone.0015536
- Lee A, Clancy S, Fleming AS (1999) Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the mpoa and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup-reinforcement. *Behav Brain Res* 100 (1-2):15-31. doi:10.1016/s0166-4328(98)00109-0
- LeScolan N, Hausberger M, Wolff A (1997) Stability over situations in temperamental traits of horses as revealed by experimental and scoring approaches. *Behav Process* 41 (3):257-266. doi:10.1016/s0376-6357(97)00052-1
- Lesimple C, Fureix C, LeScolan N, Richard-Yris M-A, Hausberger M (2011a) Housing conditions and breed are associated with emotionality and cognitive abilities in riding school horses. *Appl Anim Behav Sci* 129 (2-4):92-99. doi:10.1016/j.applanim.2010.11.005
- Lesimple C, Fureix C, LeScolan N, Richard-Yris MA, Hausberger M (2011b) Housing conditions and breed are associated with emotionality and cognitive abilities in riding school horses. *Appl Anim Behav Sci* 129 (2-4):92-99. doi:10.1016/j.applanim.2010.11.005
- Ley JM, McGreevy P, Bennett PC (2009) Inter-rater and test-retest reliability of the Monash Canine Personality Questionnaire-Revised (MCPQ-R). *Appl Anim Behav Sci* 119 (1-2):85-90. doi:10.1016/j.applanim.2009.02.027
- Liebsch G, Montkowski A, Holsboer F, Landgraf R (1998) Behavioural profiles of two Wistar rat lines selectively bred for high or low anxiety-related behaviour. *Behav Brain Res* 94 (2):301-310
- Light KR, Kolata S, Hale G, Grossman H, Matzel LD (2008) Up-regulation of exploratory tendencies does not enhance general learning abilities in juvenile or young-adult outbred mice. *Neurobiol Learn Mem* 90 (2):317-329. doi:10.1016/j.nlm.2008.04.007
- Ligout S, Foulquie D, Sebe F, Bouix J, Boissy A (2011) Assessment of sociability in farm animals: The use of arena test in lambs. *Appl Anim Behav Sci* 135 (1-2):57-62. doi:10.1016/j.applanim.2011.09.004
- Lindberg AC, Kelland A, Nicol CJ (1999) Effects of observational learning on acquisition of an operant response in horses. *Appl Anim Behav Sci* 61 (3):187-199. doi:10.1016/s0168-1591(98)00184-1

- Lloyd AS, Martin JE, Bornett-Gauci HLI, Wilkinson RG (2007) Evaluation of a novel method of horse personality assessment: Rater-agreement and links to behaviour. *Appl Anim Behav Sci* 105 (1-3):205-222. doi:10.1016/j.applanim.2006.05.017
- Lloyd AS, Martin JE, Bornett-Gauci HLI, Wilkinson RG (2008) Horse personality: Variation between breeds. *Appl Anim Behav Sci* 112 (3-4):369-383. doi:10.1016/j.applanim.2007.08.010
- Maestriperi D (2000) Measuring temperament in rhesus macaques: consistency and change in emotionality over time. *Behav Process* 49 (3):167-171. doi:10.1016/s0376-6357(00)00083-8
- Malkki HAI, Donga LAB, de Groot SE, Battaglia FP, Pennartz CMA, Neuro BMPC (2011) Towards mouse models of perseveration: A heritable component in extinction of operant behavior in fourteen standard and recombinant inbred mouse lines. *Neurobiol Learn Mem* 96 (2):280-287. doi:10.1016/j.nlm.2011.05.005
- Marinier SL, Alexander AJ (1994) The use of a maze in testing learning and memory in horses. *Appl Anim Behav Sci* 39 (2):177-182. doi:10.1016/0168-1591(94)90137-6
- Markowitz H, Schmidt M, Nadal L, Squier L (1975) Do elephants ever forget? *Journal of Applied Behavior Analysis* 8 (3):333-335. doi:10.1901/jaba.1975.8-333
- Markowska AL, Olton DS, Murray EA, Gaffan D (1989) A comparative-analysis of the role of fornix and cingulate cortex in memory - rats. *Exp Brain Res* 74 (1):187-201
- Martin-Ordas G, Haun D, Colmenares F, Call J (2010) Keeping track of time: evidence for episodic-like memory in great apes. *Anim Cogn* 13 (2):331-340. doi:10.1007/s10071-009-0282-4
- Mason G (2000) Early developmental influences of experience on behaviour, temperament and stress. In: Moberg GP, Mench JA (eds) *The biology of animal stress*. CABI Publishing, New-York,
- 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 (3-4):163-188. doi:10.1016/j.applanim.2006.05.041
- Mason GJ (1991) Stereotypies: a critical review. *Anim Behav* 41:1015-1037. doi:10.1016/s0003-3472(05)80640-2
- Mather JA, Anderson RC (1993) Personalities of octopuses (*octopus-rubescens*). *J Comp Psychol* 107 (3):336-340. doi:10.1037/0735-7036.107.3.336
- Matzel LD, Han YR, Grossman H, Karnik MS, Patel D, Scott N, Specht SM, Gandhi CC (2003) Individual differences in the expression of a "general" learning ability in mice. *J Neurosci* 23 (16):6423-6433
- McCall CA, Burgin SE (2002) Equine utilization of secondary reinforcement during response extinction and acquisition. *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):253-262. doi:10.1016/s0168-1591(02)00109-0
- McCall CA, Hall S, McElhenney WH, Cummins KA (2006) Evaluation and comparison of four methods of ranking horses based on reactivity. *Appl Anim Behav Sci* 96 (1-2):115-127. doi:10.1016/j.applanim.2005.04.021
- McCall CA, Salters MA, Simpson SM (1993) Relationship between number of conditioning trials per training session and avoidance learning in horses. *Appl Anim Behav Sci* 36 (4):291-299. doi:10.1016/0168-1591(93)90127-b
- McCann JS, Heird JC, Bell RW, Lutherer LO (1988a) Normal and more highly reactive horses .1. Heart-rate, respiration rate and behavioral observations. *Appl Anim Behav Sci* 19 (3-4):201-214. doi:10.1016/0168-1591(88)90001-9

- McCann JS, Heird JC, Bell RW, Lutherer LO (1988b) Normal and more highly reactive horses .2. The effect of handling and reserpine on the cardiac response to stimuli. *Appl Anim Behav Sci* 19 (3-4):215-226. doi:10.1016/0168-1591(88)90002-0
- McDonnell S (2003a) *The Equid Ethogram: A Practical Field Guide to Horse Behavior*. Eclipse Press,
- McDonnell SM (2003b) *The equid ethogram: a practical field guide to horse behavior*. vol 2002110116, 1st ed. edn. Eclipse Press, Lexington, KY
- McDonnell SM, Poulin A (2002) Equid play ethogram. *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):263-290
- McDougall PT, Reale D, Sol D, Reader SM (2006) Wildlife conservation and animal temperament: causes and consequences of evolutionary change for captive, reintroduced, and wild populations. *Anim Conserv* 9 (1):39-48. doi:10.1111/j.1469-1795.2005.00004.x
- McElree B (2001) Working memory and focal attention. *Journal of Experimental Psychology-Learning Memory and Cognition* 27 (3):817-835. doi:10.1037//0278-7393.27.3.817
- McGaugh JL (2000) Neuroscience - Memory - a century of consolidation. *Science* 287 (5451):248-251. doi:10.1126/science.287.5451.248
- McLean AN (2004) Short-term spatial memory in the domestic horse. *Appl Anim Behav Sci* 85 (1-2):93-105. doi:10.1016/j.applanim.2003.09.009
- McMeekin S, Jansen E, Mallan K, Nicholson J, Magarey A, Daniels L (2013) Associations between infant temperament and early feeding practices. A cross-sectional study of Australian mother-infant dyads from the NOURISH randomised controlled trial. *Appetite* 60:239-245. doi:10.1016/j.appet.2012.10.005
- Melis AP, Hare B, Tomasello M (2006) Engineering cooperation in chimpanzees: tolerance constraints on cooperation. *Anim Behav* 72:275-286. doi:10.1016/j.anbehav.2005.09.018
- Mendl M (1999) Performing under pressure: stress and cognitive function. *Appl Anim Behav Sci* 65 (3):221-244
- Mettler AE, Shivik JA (2007) Dominance and neophobia in coyote (*Canis latrans*) breeding pairs. *Appl Anim Behav Sci* 102 (1-2):85-94. doi:10.1016/j.applanim.2006.03.012
- Mika A, Mazur GJ, Hoffman AN, Talboom JS, Bimonte-Nelson HA, Sanabria F, Conrad CD (2012) Chronic Stress Impairs Prefrontal Cortex-Dependent Response Inhibition and Spatial Working Memory. *Behav Neurosci* 126 (5):605-619. doi:10.1037/a0029642
- Miller GA (1956) The magical number 7, plus or minus 2 - some limits on our capacity for processing information. *Psychol Rev* 63 (2):81-97. doi:10.1037/h0043158
- Miller KA, Garner JP, Mench JA (2006) Is fearfulness a trait that can be measured with behavioural tests? A validation of four fear tests for Japanese quail. *Anim Behav* 71:1323-1334. doi:10.1016/j.anbehav.2005.08.018
- Mills AD, Faure JM (1991) Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in japanese-quail (*coturnix-coturnix-japonica*) chicks. *J Comp Psychol* 105 (1):25-38. doi:10.1037//0735-7036.105.1.25
- Minero M, Canali E (2009) Welfare issues of horses: an overview and practical recommendations. *Ital J Anim Sci* 8:219-230
- Moberg GP, Wood VA (1982) Effect of differential rearing on the behavioral and adrenocortical response of lambs to a novel environment. *Applied Animal Ethology* 8 (3):269-279. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3762\(82\)90210-3](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3762(82)90210-3)
- Momozawa Y, Ono T, Sato F, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y, Kusunose R (2003) Assessment of equine temperament by a questionnaire survey to caretakers and

- evaluation of its reliability by simultaneous behavior test. *Appl Anim Behav Sci* 84 (2):127-138. doi:10.1016/j.applanim.2003.08.001
- Momozawa Y, Terada M, Sato F, Kikusui T, Takeuchi Y, Kusunose R, Mori Y (2007) Assessing equine anxiety-related parameters using an isolation test in combination with a questionnaire survey. *J Vet Med Sci* 69 (9):945-950. doi:10.1292/jvms.69.945
- Moons CPH, Laughlin K, Zanella AJ (2005) Effects of short-term maternal separations on weaning stress in foals. *Appl Anim Behav Sci* 91 (3-4):321-335. doi:10.1016/j.applanim.2004.10.007
- Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, Guemene D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, van Reenen CG, Richard S, Veissier I (2007) Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92 (3):317-339. doi:10.1016/j.physbeh.2006.12.003
- Morris PH, Gale A, Duffy K (2002a) Can judges agree on the personality of horses? *Personality and Individual Differences* 33 (1):67-81. doi:10.1016/s0191-8869(01)00136-2
- Morris PH, Gale A, Howe S (2002b) The factor structure of horse personality. *Anthrozoos* 15 (4):300-322
- Munsters C, Visser KEK, van den Broek J, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS (2012) The influence of challenging objects and horse-rider matching on heart rate, heart rate variability and behavioural score in riding horses. *Vet J* 192 (1):75-80. doi:10.1016/j.tvjl.2011.04.011
- Murphy J (2009) Assessing equine prospective memory in a Y-maze apparatus. *Vet J* 181 (1):24-28. doi:10.1016/j.tvjl.2009.03.028
- Murphy J, Arkins S (2007) Equine learning behaviour. *Behav Process* 76 (1):1-13. doi:10.1016/j.beproc.2006.06.009
- Murphy PM, Purvis IW, Lindsay DR, Le Neindre P, Orgeur P, Poindron P (1994) Measures of temperament are highly repeatable in merino sheep and some are related to maternal behaviour. *Proc Amt Sot Anim Prod* 9:247-250
- Murray EA, Davidson M, Gaffan D, Olton DS, Suomi S (1989) Effects of fornix transection and cingulate cortical ablation on spatial memory in rhesus-monkeys. *Exp Brain Res* 74 (1):173-186
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406 (6797):722-726. doi:10.1038/35021052
- Nagy K, Bodó G, Bárdos G, Bánszky N, Kabai P (2010) Differences in temperament traits between crib-biting and control horses. *Appl Anim Behav Sci* 122 (1):41-47
- Nagy K, Bodo G, Bardos G, Harnos A, Kabai P (2009) The effect of a feeding stress-test on the behaviour and heart rate variability of control and crib-biting horses (with or without inhibition). *Appl Anim Behav Sci* 121 (2):140-147. doi:10.1016/j.applanim.2009.09.008
- Nicol CJ (2002) Equine learning: progress and suggestions for future research. *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):193-208
- Nielsen TR, Kornum BR, Moustgaard A, Gade A, Lind NM, Knudsen GM (2009) A novel spatial Delayed Non-Match to Sample (DNMS) task in the Gottingen minipig. *Behav Brain Res* 196 (1):93-98. doi:10.1016/j.bbr.2008.07.019
- Norcross M, Poonam M, Enoch AJ, Karlsson RM, Brigman JL, Cameron HA, Harvey-White J, Holmes A (2008) Effects of adolescent fluoxetine treatment on fear-, anxiety- or

- stress-related behaviors in C57BL/6J or BALB/cJ mice. *Psychopharmacology* 200 (3):413-424. doi:10.1007/s00213-008-1215-7
- Ogden LE (2012) Do Animals Have Personality? *Bioscience* 62 (6):533-537. doi:10.1525/bio.2012.62.6.4
- Ohmura H, Boscan PL, Solano AM, Stanley SD, Jones JH (2012a) Changes in heart rate, heart rate variability, and atrioventricular block during withholding of food in Thoroughbreds. *Am J Vet Res* 73 (4):508-514
- Ohmura H, Hobo S, Hiraga A, Jones JH (2012b) Changes in heart rate and heart rate variability during transportation of horses by road and air. *Am J Vet Res* 73 (4):515-521
- Olton DS, Becker JT, Handelmann GE (1979) Hippocampus, space, and memory. *Behav Brain Sci* 2 (3):313-322
- Olton DS, Samuelson RJ (1976) Remembrance of places passed - spatial memory in rats. *J Exp Psychol Anim B* 2 (2):97-116. doi:10.1037/0097-7403.2.2.97
- Orsini C, Bonito-Oliva A, Conversi D, Cabib S (2008) Genetic liability increases propensity to prime-induced reinstatement of conditioned place preference in mice exposed to low cocaine. *Psychopharmacology* 198 (2):287-296. doi:10.1007/s00213-008-1137-4
- Packard MG (2009) Anxiety, cognition, and habit: A multiple memory systems perspective. *Brain Res* 1293:121-128. doi:10.1016/j.brainres.2009.03.029
- Packard MG, McGaugh JL (1992) Double dissociation of fornix and caudate-nucleus lesions on acquisition of 2 water maze tasks - further evidence for multiple memory-systems. *Behav Neurosci* 106 (3):439-446. doi:10.1037/0735-7044.106.3.439
- Packard MG, McGaugh JL (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 65 (1):65-72. doi:10.1006/nlme.1996.0007
- Park CR, Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, Diamond DM (2008) Acute predator stress impairs the consolidation and retrieval of hippocampus-dependent memory in male and female rats. *Learn Mem* 15 (4):271-280. doi:10.1101/lm.721108
- Parker M, Redhead ES, Goodwin D, McBride SD (2008) Impaired instrumental choice in crib-biting horses (*Equus caballus*). *Behav Brain Res* 191 (1):137-140. doi:10.1016/j.bbr.2008.03.009
- Patterson TL, Tzeng OJL (1979) Long-term memory for abstract concepts in the lowland gorilla (*gorilla g. gorilla*). *Bulletin of the Psychonomic Society* 13 (5):279-282
- Pavlov IP (1927) *Conditioned reflexes*. Oxford University Press, Oxford
- Pearce J (2008) *Animal Learning and Cognition, 3rd edition: An Introduction*. Psychology Press. doi:citeulike-article-id:3758238
- Pederson AK, King JE, Landau VI (2005) Chimpanzee (*Pan troglodytes*) personality predicts behavior. *Journal of Research in Personality* 39 (5):534-549. doi:10.1016/j.jrp.2004.07.002
- Peeters M (2011a) Evaluation du niveau de stress du cheval en compétition et en milieu hospitalier. Mesures comportementales, physiologiques et appréciation du tempérament. Université de Liège, Liège
- Peeters M (2011b) Le stress du cavalier et du cheval en compétition- appréciation, cinétique et impact sur les performances. *JRE* 2011
- Peeters M, Sulon J, Beckers JF, Ledoux D, Vandenhede M (2011) Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotropic hormone challenge. *Equine Vet J* 43 (4):487-493. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00294.x

- Pena Y, Prunell M, Rotllant D, Armario A, Escorihuela RM (2009) Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendo* 34 (9):1390-1404. doi:10.1016/j.psyneuen.2009.04.019
- Pepperberg IM (2002) The value of the Piagetian framework for comparative cognitive studies. *Anim Cogn* 5 (3):177-182. doi:10.1007/s10071-002-0148-5
- Preuss D, Wolf OT (2009) Post-learning psychosocial stress enhances consolidation of neutral stimuli. *Neurobiol Learn Mem* 92 (3):318-326. doi:10.1016/j.nlm.2009.03.009
- Range F, Bugnyar T, Schloegl C, Kotrschal K (2006) Individual and sex differences in learning abilities of ravens. *Behav Process* 73 (1):100-106. doi:10.1016/j.beproc.2006.04.002
- Reale D, Reader SM, Sol D, McDougall PT, Dingemanse NJ (2007) Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82 (2):291-318. doi:10.1111/j.1469-185X.2007.00010.x
- Regolin L, Garzotto B, Rugani R, Pagni P, Vallortigara G (2005a) Working memory in the chick: parallel and lateralized mechanisms for encoding of object- and position-specific information. *Behav Brain Res* 157 (1):1-9. doi:10.1016/j.bbr.2004.06.012
- Regolin L, Rugani R, Pagni P, Vallortigara G (2005b) Delayed search for social and nonsocial goals by young domestic chicks, *Gallus gallus domesticus*. *Anim Behav* 70:855-864. doi:10.1016/j.anbehav.2005.01.014
- Reisberg D, Heuer F (1995) Emotion's multiple effects on memory. In: McGaugh JL, Weinberger NM, Lynch G (eds) *Brain and Memory. Modulation and Mediation of Neuroplasticity*. Oxford University Press, Oxford, pp 84-92
- Richard S, Davies DC, Faure JM (2000) The role of fear in one-trial passive avoidance learning in Japanese quail chicks genetically selected for long or short duration of the tonic immobility reaction. *Behav Process* 48 (3):165-170
- Roosendaal B (2002) Stress and memory: Opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 78 (3):578-595. doi:10.1006/nlme.2002.4080
- Rosenzweig MR, Bennett EL (1996) Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res* 78 (1):57-65
- Rushen J, Munksgaard L, Marnet PG, DePassille AM (2001) Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. *Appl Anim Behav Sci* 73 (1):1-14. doi:10.1016/s0168-1591(01)00105-8
- Rushen J, Taylor AA, de Passille AM (1999) Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare. *Appl Anim Behav Sci* 65 (3):285-303. doi:10.1016/s0168-1591(99)00089-1
- Sandi C, Pinelo-Nava MT (2007) Stress and Memory: Behavioral Effects and Neurobiological Mechanisms. *Neural Plast* 2007. doi:10.1155/2007/78970
- Sankey C, Richard-Yris MA, 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 (5):753-764. doi:10.1007/s10071-010-0326-9
- Sankey C, Richard-Yris MA, Leroy H, Henry S, Hausberger M (2010b) Positive interactions lead to lasting positive memories in horses, *Equus caballus*. *Anim Behav* 79 (4):869-875. doi:10.1016/j.anbehav.2009.12.037
- Sara SJ (2000) Retrieval and reconsolidation: Toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* 7 (2):73-84. doi:10.1101/lm.7.2.73
- Schachter DL, Tulving E (1994) *Memory systems*. Bradford Books, U. S.,

- Scheid C, Noë R (2010) The performance of rooks in a cooperative task depends on their temperament. *Anim Cogn* 13 (3):545-553
- Schiller D, Delgado MR (2010) Overlapping neural systems mediating extinction, reversal and regulation of fear. *Trends Cogn Sci* 14 (6):268-276. doi:10.1016/j.tics.2010.04.002
- Schmidt A, Biau S, Mostl E, Becker-Birck M, Morillon B, Aurich J, Faure JM, Aurich C (2010a) Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domest Anim Endocrinol* 38 (3):179-189. doi:10.1016/j.domaniend.2009.10.002
- Schmidt A, Mostl E, Wehnert C, Aurich J, Muller J, Aurich C (2010b) Cortisol release and heart rate variability in horses during road transport. *Horm Behav* 57 (2):209-215. doi:10.1016/j.yhbeh.2009.11.003
- Schwabe L, Dalm S, Schachinger H, Oitzl MS (2008) Chronic stress modulates the use of spatial and stimulus-response learning strategies in mice and man. *Neurobiol Learn Mem* 90 (3):495-503. doi:10.1016/j.nlm.2008.07.015
- Schwabe L, Oitzl MS, Philippson C, Richter S, Bohringer A, Wippich W, Schachinger H (2007) Stress modulates the use of spatial versus stimulus-response learning strategies in humans. *Learn Mem* 14 (1-2):109-116. doi:10.1101/lm.435807
- Schwabe L, Wolf OT (2009) Stress Prompts Habit Behavior in Humans. *J Neurosci* 29 (22):7191-7198. doi:10.1523/jneurosci.0979-09.2009
- Schwabe L, Wolf OT (2010a) Learning under stress impairs memory formation. *Neurobiol Learn Mem* 93 (2):183-188
- Schwabe L, Wolf OT (2010b) Socially evaluated cold pressor stress after instrumental learning favors habits over goal-directed action. *Psychoneuroendo* 35 (7):977-986. doi:10.1016/j.psyneuen.2009.12.010
- Schwabe L, Wolf OT (2011a) Stress-induced modulation of instrumental behavior: From goal-directed to habitual control of action. *Behav Brain Res* 219 (2):321-328. doi:10.1016/j.bbr.2010.12.038
- Schwabe L, Wolf OT (2011b) Stress increases behavioral resistance to extinction. *Psychoneuroendo* 36 (9):1287-1293. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.02.002
- Schwabe L, Wolf OT, Oitzl MS (2010) Memory formation under stress: Quantity and quality. *Neurosci Biobehav Rev* 34 (4):584-591
- Schweitzer C, Arnould C (2010) Emotional reactivity of Japanese quail chicks with high or low social motivation reared under unstable social conditions. *Appl Anim Behav Sci* 125 (3-4):143-150. doi:10.1016/j.applanim.2010.04.005
- Schweitzer C, Levy F, Arnould C (2011) Increasing group size decreases social bonding in young Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 81 (3):535-542. doi:10.1016/j.anbehav.2010.11.017
- Seaman SC, Davidson HPB, Waran NK (2002) How reliable is temperament assessment in the domestic horse (*Equus caballus*)? *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):175-191. doi:10.1016/s0168-1591(02)00095-3
- Seed AM, Clayton NS, Emery NJ (2008) Cooperative problem solving in rooks (*Corvus frugilegus*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 275 (1641):1421-1429. doi:10.1098/rspb.2008.0111
- Selden NRW, Cole BJ, Everitt BJ, Robbins TW (1990) Damage to ceruleo-cortical noradrenergic projections impairs locally cued but enhances spatially cued water maze acquisition. *Behav Brain Res* 39 (1):29-51. doi:10.1016/0166-4328(90)90119-y

- Servatius RJ, Jiao X, Beck KD, Pang KCH, Minor TR (2008) Rapid avoidance acquisition in Wistar-Kyoto rats. *Behav Brain Res* 192 (2):191-197. doi:10.1016/j.bbr.2008.04.006
- Shettleworth SJ (2001) Animal cognition and animal behaviour. *Anim Behav* 61:277-286. doi:10.1006/anbe.2000.1606
- Shettleworth SJ (2010) *Cognition, Evolution, and Behavior*. 2nd edition edn. Oxford University Press, Inc., New-York
- Shors TJ (2004) Learning during stressful times. *Learn Mem* 11 (2):137-144. doi:10.1101/lm.66604
- Sih A, Cote J, Evans M, Fogarty S, Pruitt J (2012) Ecological implications of behavioural syndromes. *Ecol Lett* 15 (3):278-289. doi:10.1111/j.1461-0248.2011.01731.x
- Sih A, Del Giudice M (2012) Linking behavioural syndromes and cognition: a behavioural ecology perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 367 (1603):2762-2772. doi:10.1098/rstb.2012.0216
- Simpson BS (2002) Neonatal foal handling. *Appl Anim Behav Sci* 78 (2-4):303-317. doi:10.1016/s0168-1591(02)00107-7
- Skinner BF (1938) *The Behavior of Organisms: An Experimental Analysis*. Appleton-Century-Crofts,
- Smith HJ, Sheikh HI, Dyson MW, Olinio TM, Laptook RS, Durbin CE, Hayden EP, Singh SM, Klein DN (2012) Parenting and Child DRD4 Genotype Interact to Predict Children's Early Emerging Effortful Control. *Child Dev* 83 (6):1932-1944. doi:10.1111/j.1467-8624.2012.01818.x
- Smith S, Goldman L (1999) Color discrimination in horses. *Appl Anim Behav Sci* 62 (1):13-25
- Sondergaard E, Ladewig J (2004) Group housing exerts a positive effect on the behaviour of young horses during training. *Appl Anim Behav Sci* 87 (1-2):105-118. doi:10.1016/j.applanim.2003.12.010
- Sorg BA, Whitney P (1992) The effect of trait anxiety and situational stress on working memory capacity. *Journal of Research in Personality* 26 (3):235-241. doi:10.1016/0092-6566(92)90041-2
- Squire LR (1998) Memory systems. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 321 (2-3):153-156. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0764-4469\(97\)89814-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0764-4469(97)89814-9)
- Squire LR (2004) Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82 (3):171-177. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- Strelau J (1983) *Temperament, personality and arousal*. Academic Press, London
- Strelau J (1996) The regulative theory of temperament: Current status. *Personality and Individual Differences* 20 (2):131-142. doi:10.1016/0191-8869(95)00159-x
- Sutherland MA, Rogers AR, Verkerk GA (2012) The effect of temperament and responsiveness towards humans on the behavior, physiology and milk production of multi-parous dairy cows in a familiar and novel milking environment. *Physiol Behav* 107 (3):329-337. doi:10.1016/j.physbeh.2012.07.013
- Svartberg K (2002) Shyness-boldness predicts performance in working dogs. *Appl Anim Behav Sci* 79 (2):157-174. doi:10.1016/s0168-1591(02)00120-x
- Svartberg K (2005) A comparison of behaviour in test and in everyday life: evidence of three consistent boldness-related personality traits in dogs. *Appl Anim Behav Sci* 91 (1-2):103-128. doi:10.1016/j.applanim.2004.08.030

- Svartberg K, Forkman B (2002) Personality traits in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Appl Anim Behav Sci* 79 (2):133-155. doi:10.1016/s0168-1591(02)00121-1
- Teskey GC, Ossenkopp KP, Kavaliers M, Innis NK, Boon FH (1998) Individual differences in radial maze performance and locomotor activity in the meadow vole, *Microtus pennsylvanicus*. *Physiol Behav* 65 (3):555-561. doi:10.1016/s0031-9384(98)00196-6
- Thorndike EL (1911) *Animal Intelligence: Experimental Studies*. Macmillan, New-York
- Titulaer M, van Oers K, Naguib M (2012) Personality affects learning performance in difficult tasks in a sex-dependent way. *Anim Behav* 83 (3):723-730. doi:10.1016/j.anbehav.2011.12.020
- Toutain PL, Oukessou M, Autefage A, Alvinerie M (1988) Diurnal and episodic variations of plasma hydrocortisone concentrations in horses. *Domest Anim Endocrinol* 5 (1):55-59. doi:10.1016/0739-7240(88)90026-4
- Trofimiuk E, Braszko JJ (2008) Alleviation by *Hypericum perforatum* of the stress-induced impairment of spatial working memory in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 376 (6):463-471. doi:10.1007/s00210-007-0236-9
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. In: Tulving E, Donaldson WE (eds) *Organisation of memory*. Academic Press, New-York, pp 381-403
- Upton KR, Riley LG (2013) Acute stress inhibits food intake and alters ghrelin signaling in the brain of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Domest Anim Endocrinol* 44 (3):157-164. doi:10.1016/j.domaniend.2012.10.001
- Valenchon M, Lévy F, Prunier A, Moussu C, Calandreau L, Lansade L (2013) Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament. *Plos One* 8 (4):e62324. doi:10.1371/journal.pone.0062324
- Valenchon M, Lévy F, Prunier A, Moussu C, Calandreau L, Lansade L (2013) Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament (accepted for publication). *Plos One*
- Vaughan W, Greene SL (1984) Pigeon visual memory capacity. *J Exp Psychol Anim B* 10 (2):256-271. doi:10.1037//0097-7403.10.2.256
- Veena J, Srikumar BN, Raju TR, Shankaranarayana Rao BS (2009) Exposure to enriched environment restores the survival and differentiation of new born cells in the hippocampus and ameliorates depressive symptoms in chronically stressed rats. *Neurosci Lett* 455 (3):178-182
- Vicens-Costa E, Martínez-Membrives E, López-Aumatell R, Guitart-Masip M, Cañete T, Blázquez G, Tobeña A, Fernández-Teruel A (2011) Two-way avoidance acquisition is negatively related to conditioned freezing and positively associated with startle reactions: A dissection of anxiety and fear in genetically heterogeneous rats. *Physiology & Behavior* 103 (2):148-156. doi:10.1016/j.physbeh.2010.12.009
- Vickery SS, Mason GJ (2005) Stereotypy and perseverative responding in caged bears: further data and analyses. *Appl Anim Behav Sci* 91 (3-4):247-260. doi:10.1016/j.applanim.2005.01.005
- Viérin M (2002) Les réactions comportementales de peur chez les ovins domestiques (*Ovis aries*): Contribution à l'étude de l'ontogenèse et des facteurs de variation physiologiques et expérientiels. Université de Liège,
- Viérin M, Bouissou MF, Vandenheede M, Trillaud-Geyl C, Arnaud G (1998) Developpement d'une méthodologie destinée à mesurer les réactions de peur chez le cheval. Paper presented at the 24ème journée d'étude de l'Institut du Cheval, Paris, France,

- 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 (3-4):521-533. doi:10.1016/j.applanim.2008.03.003
- Visser EK, van Reenen CG, Schilder MBH, Barneveld A, Blokhuis H (2003) Learning performances in young horses using two different learning tests. *Appl Anim Behav Sci* 80 (4):311-326. doi:10.1016/s0168-1591(02)00235-6
- Visser EK, van Reenen CG, van der Werf JTN, Schilder MBH, Knaap JH, Barneveld A, Blokhuis HJ (2002) Heart rate and heart rate variability during a novel object test and a handling test in young horses. *Physiol Behav* 76 (2):289-296. doi:10.1016/s0031-9384(02)00698-4
- Visser EK, VanDierendonck M, Ellis AD, Rijksen C, Van Reenen CG (2009) A comparison of sympathetic and conventional training methods on responses to initial horse training. *Vet J* 181 (1):48-52. doi:10.1016/j.tvjl.2009.03.009
- von Borell E, Langbein J, Despres G, Hansen S, Letierrier C, Marchant-Forde J, Marchant-Forde R, Minero M, Mohr E, Prunier A, Valance D, Veissier I (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 (3):293-316. doi:10.1016/j.physbeh.2007.01.007
- Von Borstel UK (2013) Assessing and influencing personality for improvement of animal welfare: a review of equine studies. *CAB Reviews* 8 (006):1-27
- von Borstel UK, Pasing S, Gaulty M (2011) Towards a more objective assessment of equine personality using behavioural and physiological observations from performance test training. *Appl Anim Behav Sci* 135 (4):277-285. doi:10.1016/j.applanim.2011.10.007
- von Borstel UK, Pirsich W, Gaulty M, Bruns E (2012) Repeatability and reliability of scores from ridden temperament tests conducted during performance tests. *Appl Anim Behav Sci* 139 (3-4):251-263. doi:10.1016/j.applanim.2012.04.007
- Waring GH (2003) *Horse Behavior*. Noyes Publications/William Andrew Pub.,
- Warren-Smith AK, McGreevy PD (2007) The use of blended positive and negative reinforcement in shaping the halt response of horses (*Equus caballus*). *Anim Welf* 16 (4):481-488
- Watanabe NM, Stahlman WD, Blaisdell AP, Garlick D, Fast CD, Blumstein DT (2012) Quantifying personality in the terrestrial hermit crab: Different measures, different inferences. *Behav Process* 91 (2):133-140. doi:10.1016/j.beproc.2012.06.007
- Wesley RL, Cibils AF, Mulliniks JT, Pollak ER, Petersen MK, Fredrickson EL (2012) An assessment of behavioural syndromes in rangeland-raised beef cattle. *Appl Anim Behav Sci* 139 (3-4):183-194. doi:10.1016/j.applanim.2012.04.005
- Wiepkema PR, Koolhaas JM (1993) Stress and animal-welfare. *Anim Welf* 2 (3):195-218
- Williams JL, Friend TH, Nevill CH, Archer G (2004) The efficacy of a secondary reinforcer (clicker) during acquisition and extinction of an operant task in horses. *Appl Anim Behav Sci* 88 (3-4):331-341. doi:10.1016/j.applanim.2004.03.008
- Wilson DS, Clark AB, Coleman K, Dearstyne T (1994) Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends Ecol Evol* 9 (11):442-446. doi:10.1016/0169-5347(94)90134-1
- Wolf M, Weissing FJ (2012) Animal personalities: consequences for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 27 (8):452-461. doi:10.1016/j.tree.2012.05.001
- Wolff A, Hausberger M (1996) Learning and memorisation of two different tasks in horses: The effects of age, sex and sire. *Appl Anim Behav Sci* 46 (3-4):137-143. doi:10.1016/0168-1591(95)00659-1

- Wolff A, Hausberger M, LeScolan N (1997) Experimental tests to assess emotionality in horses. *Behav Process* 40 (3):209-221. doi:10.1016/s0376-6357(97)00784-5
- 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 (5):326-336. doi:10.1101/lm.62903
- Yerkes RM, Dodson JD (1908) The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *Journal of Comparative Neurology and Psychology* 18 (5):459-482. doi:10.1002/cne.920180503
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22 (2):513-523. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04218.x
- Yoder CL, Maltecca C, Cassidy JP, Flowers WL, Price S, See MT (2011) Breed differences in pig temperament scores during a performance test and their phenotypic relationship with performance. *Livestock Science* 136 (2-3):93-101. doi:10.1016/j.livsci.2010.08.004
- Young T, Creighton E, Smith T, Hosie C (2012) A novel scale of behavioural indicators of stress for use with domestic horses. *Appl Anim Behav Sci* 140 (1-2):33-43. doi:10.1016/j.applanim.2012.05.008
- Youngblood BD, Ryan DH, Harris RBS (1997) Appetitive operant behavior and free-feeding in rats exposed to acute stress. *Physiol Behav* 62 (4):827-830. doi:10.1016/s0031-9384(97)00245-x
- Zghoul T, Abarca C, Sanchis-Segura C, Albrecht U, Schumann G, Spanagel R (2007) Ethanol self-administration and reinstatement of ethanol-seeking behavior in *Per1(Brdm1)* mutant mice. *Psychopharmacology* 190 (1):13-19. doi:10.1007/s00213-006-0592-z
- Zhou WY, Crystal JD (2009) Evidence for remembering when events occurred in a rodent model of episodic memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106 (23):9525-9529. doi:10.1073/pnas.0904360106
- Zinkivskay A, Nazir F, Smulders TV (2009) What-Where-When memory in magpies (*Pica pica*). *Anim Cogn* 12 (1):119-125. doi:10.1007/s10071-008-0176-x
- Zoladz PR, Clark B, Warnecke A, Smith L, Tabar J, Talbot JN (2011) Pre-learning stress differentially affects long-term memory for emotional words, depending on temporal proximity to the learning experience. *Physiol Behav* 103 (5):467-476. doi:10.1016/j.physbeh.2011.01.016

Annexes

Annexe 1 : Résumé du poster présenté lors du 1^{er} Symposium d'Ethologie Vétérinaire (Paris, septembre 2011)

HORSES UNDER AN ENRICHMENT PROGRAM SHOWED BETTER WELFARE, STRONGER RELATIONSHIPS WITH HUMANS AND LESS FEAR

M. Valenchon¹,, F. Lévy¹, C. Neveux¹, L. Lansade¹*

Team « Comportement, Neurobiologie et Adaptation », INRA UMR85- CNRS UMR6175 - IFCE - Université François Rabelais de Tours, UMR PRC, INRA of Nouzilly, 37380 Nouzilly, France

**Corresponding author: mathilde.valenchon@tours.inra.fr*

In the life of a domestic horse, social isolation, confinement and unvaried food are common. These conditions can induce welfare alteration and behavioral issues. The aim of this study was to test if an enrichment protocol could improve welfare and also have an impact on fearfulness and horse-human relationships. Nineteen Welsh ponies of 10 months old lived during five weeks in standard (N=9) or enriched environment (N=10). In standard environment, horses lived in individual stables with wood shaving bedding, were fed with concentrated pellets and were left outside in individual paddocks thrice per week. In enriched environment, horses lived in individual stables with straw bedding during the day and by groups on a pasture during the night. Enrichment consisted in fractionating and delivering varied food all day long, offering social contacts, large stables and sensory stimulations (e.g. music, objects). The behavior of the horses was recorded in the stable. We found many indications of welfare improvement in enriched conditions from the 1st to the 5th week. On the 5th week, enriched horses expressed less aberrant behavior, alert postures, ears pointed backwards and more lateral sleeping posture. At the end of the five weeks, tests of temperament showed that enriched yearlings were less fearful and closer to humans (e.g. glances at an unknown object, latency to return eating after a sudden event, sniffing and nibbling a passive human). In addition, enriched horses expressed less defensive behaviors towards humans during manipulations (e.g. escape, biting, head-butt). To conclude, such an enrichment program could be recommended in breeding to improve welfare and horse-human relationships as well as decrease fearfulness.

Key words: equine; enrichment; temperament; horse management; animal-human relationship

Résumé

L'objectif de cette thèse était de caractériser les relations entre tempérament et performances cognitives chez le cheval et leur modulation par le stress. Le tempérament était évalué selon cinq dimensions: la peur, la réactivité à l'Homme, la grégarité, la sensibilité tactile et l'activité locomotrice. Les relations entre ces dimensions et les performances lors de tâches instrumentales et de mémoire de travail ont été recherchées. La dimension de peur semble particulièrement essentielle et son influence dépend du stress : elle aurait un effet positif sur les performances cognitives en cas de stress intrinsèque, c'est-à-dire lorsque la tâche est elle-même source de stress, et un effet négatif en cas de stress extrinsèque. En l'absence de facteur de stress, ces relations sont plus contrastées. Dans une moindre mesure, des relations entre performances cognitives et les autres dimensions de tempérament ont été observées. L'activité locomotrice a une influence positive sur les performances qui ne ressort qu'en présence de facteurs de stress, qu'ils soient extrinsèques ou intrinsèques. Ce travail de thèse permet de contribuer à la caractérisation des liens entre tempérament et cognition, qui est un champ d'étude en pleine expansion, et met en évidence l'importance du stress dans la compréhension ces relations.

Mots-clés : variabilité interindividuelle, personnalité, stress, apprentissage instrumental, mémoire de travail, mémoire à long-terme, mammifères

Résumé en anglais

The aim of the current thesis was to characterize the relationships between temperament and cognitive performances in horses and their modulation when influenced by stress. The temperament was evaluated considering five dimensions: fearfulness, reactivity to humans, gregariousness, tactile sensitivity and locomotor activity. The relationships between these dimensions and performances during instrumental learning tasks as well as working memory tests have been investigated. The dimension of fearfulness seems particularly important and its influence depends on the presence or absence of stressor. Fearfulness has a positive effect on performances in case of intrinsic stress, i.e. the cognitive task is the source of stress; and a negative effect in case of extrinsic stress. Without any stressor, these relationships are more contrasted. To a lesser extent, relationships between cognitive performances and the other dimensions of temperament have been found. Especially, the dimension of locomotor activity has a positive effect on performances that stands out only in presence of stressors, whether they are intrinsic or extrinsic. This thesis contributes to the characterization of links between temperament and cognition, which is a field of study in a wide expansion, and shows the importance of stress in order to understand these relations.

Key-words: inter-individual variability, personality, stress, instrumental learning, working memory, long-term memory, mammals