



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RESPOSTAS  
FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CASTRADOS E ÉGUAS DA  
RAÇA PANTANEIRA SOB ESTRESSE DE CURTA DURAÇÃO**

**Vanessa Cristini Sebastião da Fé**

**CAMPO GRANDE – MS  
2024**

**Vanessa Cristini Sebastião da Fé**

**EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RESPOSTAS  
FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CASTRADOS E ÉGUAS DA  
RAÇA PANTANEIRA SOB ESTRESSE DE CURTA DURAÇÃO**

**EFFECT OF SOUND ENRICHMENT ON FACIAL AND PHYSIOLOGICAL  
RESPONSES OF CASTRATED HORSES AND PANTANEIRA MARES  
UNDER SHORT-TERM STRESS**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Mato Grosso do Sul, como  
requisito para obtenção do título de Mestre  
em Ciência Animal.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marina De Nadai  
Bonin Gomes

**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Viviane Maria  
Oliveira dos Santos

|                        |                                                                                                                                                                               |             |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>DA FÉ, V. C. S.</b> | <b>EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RES-<br/>POSTAS FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CAS-<br/>TRADOS E ÉGUAS DA RAÇA PANTANEIRA SOB ES-<br/>TRESSE DE CURTA DURAÇÃO</b> | <b>2024</b> |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|

**EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RESPOSTAS  
FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CASTRADOS E ÉGUAS DA  
RAÇA PANTANEIRA SOB ESTRESSE DE CURTA DURAÇÃO**

**EFFECT OF SOUND ENRICHMENT ON FACIAL AND PHYSIOLOGICAL  
RESPONSES OF CASTRATED HORSES AND PANTANEIRA MARES  
UNDER SHORT-TERM STRESS**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Mato Grosso do Sul, como  
requisito para obtenção do título de Mestre em  
Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

Aprovado em: 19-02-2024

BANCA EXAMINADORA:

---

Dra. Viviane Maria Oliveira dos Santos  
(UFMS) – Presidente

---

Dra. Neila Lidiany Ribeiro  
(UFCG) – Membro Titular

---

Dr. Ulysses Fernandes Ervilha  
(USP) – Membro Titular

---

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Neila Lidiany Ribeiro, Usuário Externo**, em 20/02/2024, às 11:34, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Viviane Maria Oliveira dos Santos Nieto, Professora do Magistério Superior**, em 20/02/2024, às 18:12, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Ulysses Fernandes Ervilha, Usuário Externo**, em 21/02/2024, às 06:45, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufms.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4668040** e o código CRC **D86F35BA**.

---

**COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade

Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

---

**Referência:** Processo nº 23104.001236/2021-33

SEI nº 4668040

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por guiar os meus passos e iluminar toda minha trajetória fazendo com que esse mestrado acontecesse no tempo dEle, e tudo fosse melhor do que um dia eu poderia imaginar.

Aos meus pais, Jairo Jeronimo da Fé e Andrea Aparecida Sebastião da Fé, e minha irmã Isadora Caroline Sebastião da Fé, que são minha base. Agradeço imensamente por me apoiarem e vibrarem comigo a cada decisão e conquista. Sem vocês ao meu lado, nada seria possível.

A minha coorientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Viviane Maria Oliveira dos Santos, que me acolheu desde a graduação até o mestrado. Agradeço a oportunidade de tê-la ao meu lado e aprender tanto, e pela honra de fazer parte do Núcleo de Estudos em Ambiência, Bioclimatologia, Bem-estar e Etologia (NEABBE) ao lado das minhas meninas, Ana Caroline Bini de Lima e Maria Simara Palermo Hernandez, obrigada pela cumplicidade, companheirismo e trabalho em equipe que tornaram essa fase tão especial e produtiva.

A minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Marina De Nadai Bonin Gomes, por todo apoio, auxílio e ensinamentos fornecidos ao longo desses anos.

Aos meus amigos e companheiros que estiveram comigo ao longo desta jornada, Glenda Sousa, Denise Santana, Luan Valério, Laiz Luana da Silva, Alisson Alves, Giuliana Velásquez, Deise Kuim e Bruna Ximenes. Aos meus colegas de curso que deixaram meus dias mais leves e felizes, Julia Bouffleur, Luana Decco, Samuel Francisco, Amanda Alice, Wallyson Alves, Indira Daiane e Caroline Ferreira. Minha gratidão a todos vocês.

Ao secretário técnico administrativo, Ricardo de Oliveira dos Santos, por toda paciência, atenção e disponibilidade, e por não medir esforços para auxiliar e resolver das situações mais simples às mais complexas.

Agradeço aos professores doutores, Fabiana Ribeiro Caldara, Kate Moura da Costa Barcelos, Ulysses Fernandes Ervilha, Neila Lidiany Ribeiro, por aceitarem o convite de compor as bancas avaliadoras e contribuírem com este trabalho.

Agradeço à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), e ao programa de pós-graduação Ciência Animal

pela formação que me proporcionaram. Hoje sou uma pessoa transformada pelo conhecimento que adquiri, graças ao ambiente que encontrei aqui.

Agradeço à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa concedida, o que tornou essa trajetória, esse sonho em realidade.

Assim como todos os funcionários, professores e estagiários, que contribuíram no desenvolvimento pessoal e profissional, na realização da pesquisa, e que puderam impactar positivamente em minha formação. O meu mais sincero obrigada. Eu sinto orgulho de ter feito parte da UFMS por sete incríveis anos.

*“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível.”*  
São Francisco de Assis

## RESUMO

DA FÉ, V. C. S. Efeito do enriquecimento sonoro sobre respostas faciais e fisiológicas de cavalos castrados e éguas da raça pantaneira sob estresse de curta duração. 2024. 62f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

A pesquisa foi realizada com objetivo de avaliar estímulos auditivos para equinos durante isolamento social e restrição de movimentos, e a capacidade destes em promover a redução de respostas de estresse. No capítulo 1, têm-se a revisão de literatura, onde inicialmente foi abordado os desafios enfrentados no ambiente doméstico, assim como os indicadores não invasivos de estresse, e posteriormente, sobre o enriquecimento sonoro no cenário da produção animal como forma de promover qualidade de vida e zelar pelo bem-estar, principalmente daqueles que são criados em sistema intensivo. A percepção e a capacidade auditiva nos equinos foram relatadas podendo desta maneira verificar o potencial efeito da música para a espécie. O capítulo 2 é o artigo em que foram avaliados equinos da raça Pantaneira (n=8), composto pelo experimento I (4 fêmeas) e experimento II (4 machos castrados) em delineamento quadrado latino 4x4 com tratamento experimental – gênero musical (clássica (9ª sinfonia de Beethoven), country (Rablim in my shoes de Hank Williams Jr) e new age (Horsing around de Janet Marlow)) e controle (sem música). Cada indivíduo foi levado individualmente a um tronco de contenção, e posteriormente, administrado o tratamento experimental por cerca de 24 minutos. Parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, variabilidade da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura ocular e temperatura superficial), assim como as expressões faciais foram registrados. Durante as coletas também foram monitorados os parâmetros microclimáticos para caracterização do ambiente. As músicas 9ª sinfonia de Beethoven (gênero clássica) e Rablim in my shoes de Hank Williams Jr (gênero country) promovem redução de estresse, e consequente efeito de relaxamento nas fêmeas durante o isolamento social e restrição de movimentos. Os cavalos expressaram resposta menos acentuada, demonstrando possível preferência pela música Horsing around de Janet Marlow (gênero new age), nas mesmas condições de manejo. A música pode ser utilizada como enriquecimento sonoro para equinos da raça Pantaneira na circunstância específica do presente trabalho, sendo importante considerar o gênero musical, sexo, raça, manejo e tempo de exposição.

**Palavras-chave:** Bem-estar, estímulo auditivo, expressões faciais, música

## ABSTRACT

DA FÉ, V. C. S. Effect of sound enrichment on facial and physiological responses of castrated horses and pantaneira mares under short-term stress. 2024. 62f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

The research was carried out with the objective of evaluating auditory stimuli for horses during social isolation and movement restrictions, and their ability to promote the reduction of stress responses. In chapter 1, there is a literature review, which initially addressed the challenges faced in the domestic environment, as well as non-invasive indicators of stress, and later, on sound enrichment in the animal production scenario as a way of promoting quality of life and ensuring the well-being, especially of those raised in an intensive system. Perception and hearing capacity in horses have been reported, thus verifying the potential effect of music on the species. Chapter 2 is the article in which horses of the Pantaneira breed (n=8) were evaluated, consisting of experiment I (4 females) and experiment II (4 castrated males) in a 4x4 Latin square design with experimental treatment – musical genre (classical (classical) Beethoven's 9th symphony), country (Rablin in my shoes by Hank Williams Jr) and new age (Horsing around by Janet Marlow)) and control (no music). Each individual was taken individually to a containment trunk, and subsequently administered the experimental treatment for approximately 24 minutes. Physiological parameters (heart rate, heart rate variability, respiratory rate, eye temperature and surface temperature) as well as facial expressions were recorded. During collections, microclimatic parameters were also monitored to characterize the environment. The songs 9th Symphony by Beethoven (classical genre) and Rablim in my shoes by Hank Williams Jr (country genre) promote stress reduction and a consequent relaxation effect in females during social isolation and movement restrictions. The horses expressed a less pronounced response, demonstrating a possible preference for the song Horses around by Janet Marlow (new age genre), under the same handling conditions. Music can be used as sound enrichment for Pantaneira horses in the specific circumstances of the present work, and it is important to consider the musical genre, sex, breed, handling and exposure time.

**Keywords:** Auditory stimulus, facial expressions, music, well-being

## SUMÁRIO

|           |                                                                                                                                                                         |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>  | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                                                                                                                       | <b>13</b> |
| <b>2</b>  | <b>CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA</b>                                                                                                                                | <b>14</b> |
| 2.1       | Desafios usuais enfrentados no ambiente doméstico                                                                                                                       | 14        |
| 2.2       | Indicadores não invasivos de estresse                                                                                                                                   | 15        |
| 2.3       | Enriquecimento sonoro na produção animal                                                                                                                                | 17        |
| 2.4       | Percepção auditiva em equinos                                                                                                                                           | 23        |
|           | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                             | 28        |
|           | <b>CAPÍTULO 2: EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RESPOSTAS FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CASTRADOS E ÉGUAS DA RAÇA PANTANEIRA SOB ESTRESSE DE CURTA DURAÇÃO</b> | <b>31</b> |
| <b>1</b>  | <b>Introdução</b>                                                                                                                                                       | <b>32</b> |
| <b>2</b>  | <b>Materiais e Métodos</b>                                                                                                                                              | <b>33</b> |
| 2.1       | Local                                                                                                                                                                   | 33        |
| 2.2       | Parâmetros microclimáticos                                                                                                                                              | 33        |
| 2.3       | Animais e instalação                                                                                                                                                    | 34        |
| 2.4       | Delineamento experimental                                                                                                                                               | 34        |
| 2.5       | Protocolo experimental                                                                                                                                                  | 35        |
| 2.6       | Parâmetros fisiológicos                                                                                                                                                 | 36        |
|           | 2.6.1 Frequência cardíaca (FC) e variabilidade da frequência cardíaca (VFC)                                                                                             | 36        |
|           | 2.6.2 Frequência respiratória (FR)                                                                                                                                      | 37        |
|           | 2.6.3 Temperatura ocular por termografia infravermelha (TOT)                                                                                                            | 37        |
|           | 2.6.4 Temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST)                                                                                                        | 37        |
| 2.7       | Expressões faciais (EF)                                                                                                                                                 | 38        |
| 2.8       | Descrição estatística                                                                                                                                                   | 40        |
| <b>3.</b> | <b>Resultados</b>                                                                                                                                                       | <b>41</b> |
| 3.1       | Experimento I                                                                                                                                                           | 41        |
| 3.2       | Experimento II                                                                                                                                                          | 49        |
| <b>4.</b> | <b>Discussão</b>                                                                                                                                                        | <b>56</b> |
| <b>5.</b> | <b>Conclusão</b>                                                                                                                                                        | <b>59</b> |
|           | Referências                                                                                                                                                             | 60        |

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Espectrogramas dos tratamentos experimentais                                                                                                                         | 35 |
| <b>Figura 2.</b> Configuração experimental                                                                                                                                            | 36 |
| <b>Figura 3.</b> Protocolo experimental                                                                                                                                               | 36 |
| <b>Figura 4.</b> Ilustração dos pontos de coleta das temperaturas timpânica, e superficiais do pescoço, cernelha, dorso, garupa e inserção da cauda                                   | 38 |
| <b>Figura 5.</b> Gráfico de caixas da frequência cardíaca (bpm) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo de três intervalos                          | 41 |
| <b>Figura 6.</b> Gráficos de caixas da temperatura timpânica (°C) e corporal (°C) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta      | 43 |
| <b>Figura 7.</b> Gráfico de caixas do descritor de ação facial AD38 (dilatação da narina) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos    | 45 |
| <b>Figura 8.</b> Gráfico de caixas do descritor de ação facial EAD104 (orelhas para trás) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos    | 45 |
| <b>Figura 9.</b> Gráfico de caixas da unidade de ação facial AU47 (meia piscada) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos             | 46 |
| <b>Figura 10.</b> Biplot bidimensional da análise de componentes principais das fêmeas com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento                            | 48 |
| <b>Figura 11.</b> Gráfico de caixas da frequência respiratória (movimentos/min) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta        | 50 |
| <b>Figura 12.</b> Gráfico de caixas da temperatura ocular (°C) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta                         | 51 |
| <b>Figura 13.</b> Gráfico de caixas do descritor de ação facial EAD101 (orelhas para frente) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos | 53 |
| <b>Figura 14.</b> Biplot bidimensional da análise de componentes principais dos machos com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento                            | 55 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabela 1.</b> Médias dos parâmetros microclimáticos e índice de temperatura do globo negro (ITGU) mensurados durante o período das coletas de dados.                                                                  | <b>33</b> |
| <b>Quadro 1.</b> Resumo dos códigos pertencentes ao EquiFACS selecionados para avaliação da expressão facial de cavalos submetidos à isolamento social e restrição de movimentos.                                        | <b>39</b> |
| <b>Tabela 2.</b> Média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil da frequência cardíaca média e razão LF/HF dos tratamentos controle, clássica, new age e country para fêmeas.                                | <b>41</b> |
| <b>Tabela 3.</b> Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle, clássica, new age e country das fêmeas ao longo de quatro pontos de coleta.                                                   | <b>42</b> |
| <b>Tabela 4.</b> Média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil da frequência por minuto de parâmetros faciais dos tratamentos controle, clássica, new age e country das fêmeas ao longo de três intervalos. | <b>43</b> |
| <b>Tabela 5.</b> Valores de carga, autovalores e variância da análise de componentes principais das fêmeas.                                                                                                              | <b>47</b> |
| <b>Tabela 6.</b> Média e desvio-padrão ou mediana e amplitude interquartil da frequência cardíaca média e razão LF/HF dos tratamentos controle, clássica, new age e country para os machos.                              | <b>49</b> |
| <b>Tabela 7.</b> Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle, clássica, new age e country dos machos ao longo de quatro pontos de coleta.                                                   | <b>50</b> |
| <b>Tabela 8.</b> Média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil da frequência por minuto de parâmetros faciais dos machos nos tratamentos controle, clássica, new age e country ao longo de três intervalos. | <b>51</b> |
| <b>Tabela 9.</b> Valores de carga, autovalores e variância da análise de componentes principais dos machos.                                                                                                              | <b>54</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Antes da domesticação, os equinos em vida livre passavam horas pastejando, de maneira contínua ao longo do dia, e como espécie gregária estabeleciam pequenas manadas com uma sociedade hierárquica (Mills et al., 2020; Beaver, 2019). Com o processo de domesticação, e o crescimento dos centros urbanos, esses animais passaram a habitar estábulos individuais, isolados socialmente, que somado aos manejos habituais como transporte, tronco de contenção, casqueamento e tosquia, o que acarretam estresse, e consequente, impacto negativo no bem-estar (Krueger et al., 2021; De Lima et al., 2023).

Nesse cenário, o enriquecimento sonoro surge com a possibilidade de priorizar qualidade de vida, e zelar pelo bem-estar dos equinos, sendo atualmente utilizado com objetivos de reduzir estresse, depressão, dor, e ansiedade em uma variedade de espécies animais (Amaya, 2020; Dhungana et al., 2018; Hartman, 2019; Paz, 2020; Robbins & Margulis, 2014; Sampaio, 2015), sendo o enriquecimento sonoro um manejo que consiste em reproduzir som para animais que não têm acesso à ambientes abertos ou foram temporariamente isolados (Rorvang, 2020).

O sistema auditivo equino possui a capacidade de localizar sons ao redor, e focar em um sinal auditivo específico, a captura de sons varia de 50 a 33.000 Hz que indica ótima habilidade de escuta (Rorvang, 2020), em que diferentes gêneros musicais têm gerado respostas fisiológicas e comportamentais. Como exemplo, em equinos estabulados as músicas de gênero country e clássica sugerem efeitos calmantes, em que produziram maior frequência de respostas comportamentais de repouso (Carter, 2012; Huo et al., 2021; Stachurska, 2015), já o gênero rock pode gerar efeito variável, aumentando o estresse do animal (Houpt, 2000).

Considerando a responsabilidade humana sobre o bem-estar e a qualidade de vida de animais domesticados e visando a utilização segura e eficiente do enriquecimento sonoro se faz necessário estudos com diversidade de gêneros musicais, em variedade maior de contextos relacionados aos desafios usuais enfrentados por equinos no ambiente doméstico, como o manejo diário realizado em tronco de contenção. Portanto, o presente trabalho foi proposto objetivando avaliar estímulos auditivos para equinos, e a capacidade destes em promover a redução das respostas de estresse durante o isolamento social e a restrição de movimentos.

## 2. CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Desafios usuais enfrentados no ambiente doméstico

Os equinos, assim como outras espécies domesticadas, possuem requisitos ambientais que são essenciais para o seu bem-estar. Quando as necessidades básicas da espécie não são atendidas, o bem-estar é comprometido (Krueger et al., 2021). Deste modo, o ambiente doméstico pode ser extremamente desafiador, principalmente para os animais mantidos em condições subótimas, como ocorre em sistemas intensivos de criação, em que a expressão do comportamento natural é limitada (De Lima et al., 2023).

É comum que equinos estabulados sejam mantidos em isolamento social. Entretanto, para uma espécie que naturalmente vive em manada é ideal o contato com coespecíficos devido à pressão evolutiva e, consequente, vulnerabilidade como presa (Mills et al., 2020). Nesse contexto, a restrição de movimentos advinda das limitações físicas impostas aos animais criados em sistema intensivo é prejudicial, se considerarmos que os cavalos em vida livre percorrem em média 18 Km por dia, enquanto os cavalos domésticos mantidos a pasto, algo em torno de 6,5 Km diários. Em contraste, os cavalos domésticos estabulados que, mesmo com tempo de soltura em piquetes, andam aproximadamente menos de 1,6 Km por dia (Beaver, 2019).

Arelado ao isolamento social e restrição de movimentos, o manejo habitual realizado em tronco de contenção seja para intervenção clínica, controle sanitário ou reprodutivo, pode acarretar estresse (Vitale et al., 2013), e consequente, desconforto ao animal e debilitação na saúde. Na presença de um potencial estressor, a defesa biológica organizada pelo sistema nervoso central apresenta um compilado de reações, sendo estas autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais (McGreevy et al., 2018).

A estratégia de enfrentamento definida como o esforço do animal para dominar a circunstância presenciada, pode revelar sua capacidade adaptativa a situações estressantes (Budzyńska, 2014). No estágio I, sob estresse agudo, ocorre a prevalência de atuação simpática do sistema nervoso autônomo (SNA), com a liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) gerando aumento da pressão arterial, aceleração dos batimentos cardíacos, aumento da frequência respiratória, e elevação da temperatura corporal (McGreevy et al., 2018).

Caso o estressor persistir, no estágio II, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) passará a liberar glicocorticoides e, portanto, uma resposta de cortisol poderá ser mantida de minutos a horas, somada a mobilização de energia (glicose) para os músculos, caracterizando a fase crônica (Kovac et al., 2022).

Simultaneamente, ocorre as reações comportamentais que fornecem ao cavalo a versatilidade de reagir adequadamente a situações desafiadoras, por exemplo, a fuga. Em casos de isolamento social e restrição de movimentos, pode-se ter a ocorrência de comportamentos deslocados, que são comportamentos normais realizados em uma situação diferente daquela em que frequentemente são realizados, como autocatção, bocejo e exposição da língua (McGreevy et al., 2012; Torcivia & McDonnel, 2021). Além disso, as alterações nas expressões faciais dos equinos (Wathan et al., 2015) fornecem informações relevantes sobre o estado emocional do animal, nesse caso o estresse enfrentado.

## **2.2 Indicadores não invasivos de estresse**

Visando identificar o estresse ao qual os equinos estão sujeitos de forma a trazer menos desconforto e facilidade no manuseio, priorizando a saúde e bem-estar, surge o uso de indicadores não invasivos. Sendo uma possibilidade em substituição a métodos invasivos que causam maior resposta ao estresse, como amostragem de sangue e saliva para avaliar concentração de cortisol (Konig et al., 2017; Palme et al., 2019; Janczrete et al., 2019; Kim & Cho, 2021).

A frequência cardíaca (FC) é um indicador não invasivo, medida pelo número de batimentos por minuto (bpm). Quando um animal é submetido ao estresse, a FC é elevada, aumentando o fluxo sanguíneo para suprir a demanda de oxigênio dos músculos (Redaelli et al., 2010; König et al., 2017). Juntamente com a FC, a análise da variabilidade da frequência cardíaca pode ser aplicada na avaliação do estresse, sendo mensurada pela variação dos intervalos entre os batimentos cardíacos, e capaz de medir o equilíbrio entre os tônus simpático e parassimpático, fornecendo maior detalhe da resposta e reatividade do que apenas a frequência cardíaca (Rietmman et al., 2004; Stewart et al., 2008; König et al., 2017).

O estresse provoca a diminuição do movimento torácico devido a tensão muscular, afetando o padrão respiratório para ciclos mais curtos e rápidos, e gerando elevação da frequência respiratória, que também pode ser útil como um indicador (Gomes et al., 2015; Mellor et al., 2017; Hall, 2021). Além disso, a temperatura superficial pode ser alterada com elevação em algumas regiões do corpo que são mais vascularizadas, ocasionado por vasodilatação periférica, podendo diminuir em outras ou permanecer inalterada, não havendo uma tradução direta do efeito advindo do estresse (Vinkers et al., 2013; König et al., 2017).

A região auricular é uma zona com numerosos vasos sanguíneos que permitem observar alterações circulatórias, em que na presença de estressor, a vasculatura presente responde à influência simpática que controla o tônus vasomotor nas artérias que dissipam quantidades maiores ou menores de calor dependendo do fluxo sanguíneo (Ludwig et al., 2007). Durante a reação de defesa/alarme em equinos pode ocorrer vasoconstricção e subsequente diminuição da temperatura auricular, considerada um indicador não invasivo (Kay & Hall, 2009).

Ademais, tem-se uma técnica que oferece a possibilidade de operar à uma certa distância, interferindo minimamente no comportamento, evitando estresse adicional ao sujeito, a chamada termografia infravermelha, em que uma diminuição seguida de aumento da temperatura ocular (carúncula lacrimal) aferida por termografia foi relatada como um indicador confiável de estresse (McGreevy et al., 2012; Valera et al., 2012).

A análise das respostas fisiológicas ao estresse pode ser complementada com observações do comportamento (Pawluski et al., 2017), como as expressões faciais. Em humanos, o Sistema de Codificação de Ação Facial (FACS) fornece um método para identificar e registrar expressões faciais com base no movimento visível dos músculos faciais subjacentes (Ekman, 2002). A codificação requer treinamento e pode-se esperar uma codificação confiável de codificadores certificados. Com base na metodologia FACS, Wathan et al. (2015), desenvolveram o Equine Facial Action Coding System (EquiFACS).

O EquiFACS descreve o comportamento facial equino observável em duas categorias: unidades de ação (AUs) e descritores de Ação (ADs), a codificação FACS utiliza observação

de vídeo detalhada quadro a quadro do movimento muscular facial (Rashid et al., 2020). Os códigos designados AUs representam a contração de um músculo facial específico (ou conjunto de músculos) e os movimentos faciais resultantes (Ekman, 2002). Os ADs também são usados para movimentos faciais, só que gerais, onde a base muscular não pode ser identificada, ou é o resultado de um conjunto muscular diferente (Wathan et al., 2015).

Os equinos têm a capacidade de gerar um repertório notável de expressões faciais, algumas das quais têm sido associadas a determinados estados emocionais, como no caso do estresse, sendo esta atividade facial uma ferramenta para avaliação do bem-estar em mamíferos (Wathan et al., 2015). Poucos estudos foram realizados em cavalos para avaliar as expressões faciais durante situações de manejo potencialmente estressantes, como tosquia (Mott et al., 2020), transporte (Lundblad et al., 2021), restrição alimentar (Merkies et al., 2019) e isolamento social (Lundblad et al., 2021).

Diante deste cenário, e considerando a responsabilidade sobre a qualidade de vida dos animais de produção, novas abordagens com o uso da música estão sendo pesquisadas de modo que priorize o bem-estar e amenize o impacto causado pelo estresse.

### **2.3 Enriquecimento sonoro na produção animal**

As primeiras tentativas de avaliar o efeito da música em animais foram relatadas no século 20 (Gvaryahu et al., 1989; Uetake et al., 1997). O uso da música como método terapêutico tem longa história, onde é interpretada como uma forma positiva ao bem-estar e qualidade de vida, possuindo a capacidade de proporcionar conforto, relaxamento e tranquilidade, parâmetros que podem ser avaliados nos indivíduos por meio da mensuração do cortisol, frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial (Calamita et al., 2016) e até mesmo comportamental (Stachurska, 2015).

Embora existam muitas definições de música, ela geralmente é definida como uma combinação de vários elementos: ritmo, tom, frequência, sonoridade e letras (Trappe, 2012). Os animais são dotados de senciência, ou seja, interagem e são influenciados pelo meio ao qual

estão inseridos, e apresentam a capacidade de apreciar sensações de forma consciente, diferenciando ruídos, frequências, e melodias presentes no ambiente (Calamita et al., 2016), sendo notório o potencial da utilização da música como forma de enriquecimento.

O enriquecimento ambiental possui o intuito de promover maior qualidade de vida para os animais em cativeiro por meio do oferecimento de estímulos capazes de motivá-los a realizar comportamentos considerados inerentes à espécie, e auxiliá-los na redução de frustrações, culminando com melhor bem-estar e desempenho produtivo (Campos et al., 2010; Martin et al., 2015; Souza, 2022). Pode ser classificado em social, alimentar, sensorial, físico e cognitivo.

O enriquecimento ambiental sensorial sonoro consiste em reproduzir som (da natureza ou música) para animais que não têm acesso à ambientes abertos, ou foram temporariamente isolados. O som também pode ser reproduzido quando há a necessidade de introduzir um animal em recinto ou área desconhecida. Para espécies cujo repertório vocal inclui canto (passeriformes) ou que se comunicam simplesmente por vocalização (uivo), utilizar gravações de sons pode estimular os animais (Rørvang, 2020).

Em tese, o enriquecimento pode ser usado para atingir quatro objetivos (Sueur & Pelé, 2019). O primeiro é aumentar a diversidade comportamental do animal, quer esses comportamentos sejam naturais ou não naturais, mas levam a um melhor nível de bem-estar. O segundo objetivo é reduzir a frequência de comportamentos anormais definidos como estereotípias. O terceiro consiste em aumentar o número de comportamentos naturais por enriquecimento, muitas vezes para fins de conservação de espécies, e o quarto objetivo consiste em aumentar o uso positivo e pleno do ambiente cativo, seja fazenda ou zoológico.

É conhecido que alguns animais percebem e se comunicam sobre o mundo em maneiras muito diferentes dos humanos. Havendo, deste modo, a comunicação por meio de infrassom (ondas sonoras extremamente graves, com frequências abaixo dos 20 Hz) emitidas por elefantes, golfinhos e baleias, e ultrassom (ondas sonoras superiores à 20.000 Hz) emitidas por morcegos e alguns roedores (Stevens, 2015). A audição humana decodifica sons tão somente que se estendam entre as frequências de 20 a 20.000 Hz (Usberco et al., 2015).

Enquanto muitos animais podem se beneficiar da exposição à música, outros demonstram reações adversas ou nenhuma alteração no comportamento (Bowman et al., 2015). Assim, para que a música seja eficaz em determinada espécie, ela pode muitas vezes estar dentro ou fora da capacidade auditiva dos humanos, mas em frequências diferentes (Stevens, 2015).

Alguns trabalhos foram realizados testando gêneros diferentes de música nas mais variadas espécies, como em cães (Kogan et al., 2012; Da Silva et al., 2019), equinos (Haupt et al. 2000), bovinos leiteiros (Crouch et al., 2019; Pinkerton, 2022) e até mesmo em humanos (Sung et al., 2008; Becknell et al., 2008). De maneira geral, nota-se que exposição às músicas mais lentas, de melodia suave, sugerem reduzir a agitação, propiciar o sono e diminuir o estresse, promovendo assim um efeito relaxante, por exemplo, nos gêneros musicais clássica e jazz. Já efeitos pesados e/ou enérgicos na música, promovem comportamentos que sugerem aumento na agitação, e que pode ser um indicativo de estresse, como exemplo, músicas dos gêneros rock hard e heavy metal.

Portanto, faz-se necessário que mais pesquisas sejam realizadas investigando diferentes ocasiões e cenários dentro da produção animal, levando em consideração o efeito que pode ser provocado pelo gênero musical escolhido. Também é de suma importância, que se tenha um conhecimento prévio da percepção auditiva e funcionamento do sistema auditivo da espécie que será analisada, neste caso os equinos.

## **2.4 Percepção auditiva em equinos**

A capacidade auditiva de equinos foi estudada pela primeira vez na década de 80 por Heffner & Heffner (1983, 1984, 1986), e surpreendentemente poucas pesquisas em audição foram realizadas desde então. Estes pesquisadores mapearam o intervalo de frequências que os cavalos podem detectar e demonstraram que enquanto os animais de grande porte tendem a ser hábeis em ouvir frequências mais baixas, os cavalos são uma exceção.

A frequência mais baixa detectável por equinos é de 50 Hz, que é maior do que o limiar mais baixo da detecção humana (20 Hz). Por outro lado, a audição equina excede as frequências mais altas que podem ser ouvidas por humanos (33.000 Hz em comparação com 20.000

Hz para humanos), indicando que haverá situações em que um cavalo pode detectar sons que os humanos são incapazes de ouvir, e vice-versa (Heffner & Heffner, 1983).

O sistema auditivo equino possui a capacidade de localizar sons ao redor, e focar em um sinal auditivo específico. A captura de sons varia de 50 a 33.000 Hz, porém a melhor sensibilidade está entre 1.000 Hz e 16.000 Hz. Anatomicamente consiste em orelhas externa, média e interna semelhante aos seres humanos, já o pavilhão, meato acústico externo, membrana timpânica, ossículos, cóclea, sistema vestibular e vias dos nervos cranianos são semelhantes aos de outras espécies de mamíferos (Rørvang, 2020).

Além disso, a forma de funil da orelha equina proporciona um ganho de pressão acústica de 10 a 20 dB (Fletcher, 1985) melhorando a acuidade da audição, e apesar de não ter uma indicação da faixa adequada de decibéis para equinos, alguns trabalhos utilizaram uma faixa de 60-70 dB (Lecoq et al., 2015; Hartman & Greening, 2019; Huo et al., 2021).

Em termos práticos, o cavalo é capaz de reconhecer uma pessoa familiar com base em pistas vocais (voz) mesmo quando incapaz de enxergá-la, e o mesmo parece ser o caso de membros da mesma espécie, isto devido a habilidade do cérebro em integrar sinais de identidade multissensoriais (Lampe & Andre, 2012). O que pode ajudar a explicar por que alguns cavalos reagem fortemente à separação de coespecíficos. Embora o cavalo seja removido fisicamente, retornos de chamada de membros da mesma espécie ainda pode afetá-lo, e dependendo da relação social entre eles, faz com que o animal se comporte mais excitado ou ansioso (Rørvang, 2020).

O aparato perceptivo complementa a percepção visual. É um sistema de alerta que possibilita que os cavalos detectem, localizem e identifiquem potenciais predadores. Além disso, como em muitas espécies, o cavalo não é apenas um receptor, mas também um emissor de sons. Assim, a percepção auditiva desempenha papel significativo na comunicação entre indivíduos e, portanto, em sua vida social (Leblanc, 2013).

A habilidade dos cavalos para localizar sons, ou seja, a capacidade de determinar sua fonte, é crítico para a sobrevivência. Nos predadores, contribui não só para localizar a presa,

mas também para descobrir como avançar sem ser visto. Em presas, a localização fornece informações sobre a direção da aproximação de predadores, mesmo antes que eles possam ser vistos, e assim também indicar possíveis vias de fuga. Desta maneira, a audição e a visão parecem desempenhar papéis complementares.

Sabe-se que a velhice afeta a capacidade auditiva em muitos animais, incluindo humanos. Em cavalos, apenas o estudo de Ödberg (1978) investigou a capacidade auditiva em função da idade, constatando que cavalos mais velhos (15-18 anos de idade) mostraram menos reações comportamentais aos sons, do que cavalos mais jovens (5-9 anos de idade). Desde então, nenhuma publicação de estudos tem investigado a idade e deficiência auditiva em equinos.

Sugere-se que, como a surdez progride, o cavalo pode compensar aprimorando outros sentidos como visão e aprendendo rotinas diárias para se comportar normalmente (Wilson<sup>2</sup> et al., 2011). A detecção da perda auditiva parcial ou total em cavalos é difícil, mas ainda assim é importante para quem trabalha no meio equestre ter a ciência de que, a capacidade auditiva pode enfraquecer com a idade.

Em muitos centros equestres é comum o uso de rádio ou outros dispositivos de música que permanecem tocando durante o tempo em que as pessoas estão ativas. O efeito dessa música não foi amplamente estudado em cavalos e, portanto, não se sabe se esses sons são percebidos como atrativos ou aversivos ou ainda extenuantes pelo cavalo, reforçando a necessidade de que mais pesquisas precisam ser executadas a fins de esclarecimentos necessários.

Em situações cotidianas de manejo, os efeitos da música foram estudados por Neveux et al. (2016) no qual foi demonstrado que a música clássica reduz a intensidade das respostas ao estresse de cavalos submetidos a transporte de curta distância, ou a um tratamento de ferrador, sugerindo nesse caso que a música de fundo pode ter implicações práticas.

A música instrumental de violão pode ter uma influência positiva em cavalos de corrida árabes quando tocada por 5 horas diariamente por um período de 1 a 3 meses, após isto o efeito positivo diminuiu (Stachurska et al., 2015). O mesmo tipo de música foi testado por Kedzierski et al. (2017) afirmando que os efeitos positivos da música eram mais proeminentes quando

250 tocada por maiores períodos. Esses autores testaram um grupo de cavalos recebendo 3 horas  
251 diárias de música instrumental para violão, e outro grupo com apenas 1 hora.

252 Por sua vez, Houpt et al. (2000) avaliaram a influência da música para pôneis isolados  
253 de coespecífico de seu rebanho, e relataram que durante a exposição à música country, os ani-  
254 mais desprenderam mais tempo com a alimentação, com menor ocorrência de relinchos se  
255 comparado o período em que não havia música. No mesmo sentido, Wilson<sup>1</sup> et al. (2011) com-  
256 provaram que o grupo de equinos exposto ao mesmo estilo musical permanecia a maior parte  
257 do tempo comendo, e em estação, com frequências cardíacas mais baixas quando comparados  
258 ao grupo sem música.

259 Tratando-se de sons aversivos aos equinos ainda há a necessidade de pesquisas que  
260 comprovem algum efeito, porém é compreendido que ruído contínuo pode ter um impacto  
261 negativo na saúde animal (Algers et al., 1978). O ruído é um som muito alto ou perturbador  
262 (Nielsen, 2018) que pode gerar respostas fisiológicas de estresse e/ou mudanças comportamen-  
263 tais em animais de fazenda (Hemsworth, 2003).

264 Conforme o exposto verifica-se que os equinos possuem excelente capacidade auditiva  
265 e o uso da música demonstra eficácia e promove benefícios para espécie. Diante disso, estudos  
266 dos gêneros musicais sobre o comportamento de equinos poderão resultar em novas informa-  
267 ções dos efeitos do enriquecimento ambiental sensorial sonoro como potencial redutor de es-  
268 tresse nesses animais.

269 Com os resultados obtidos no presente estudo, foi elaborado o artigo intitulado “Efeito  
270 do enriquecimento sonoro sobre respostas faciais e fisiológicas de cavalos castrados e éguas  
271 da raça pantaneira sob estresse de curta duração”, redigidos conforme as normas da revista  
272 *Animals* An Open Access Journal from MDPI e adaptações às normas de elaboração de dis-  
273 sertações e teses do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal/FAMEZ/UFMS.

274

275

276

277

## REFERÊNCIAS

- ALGERS, B.; EKESBO, I.; STRÖMBERG, S. The impact of continuous noise on animal health. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum*, n. 68, p. 1-26, 1978.
- AMAYA, V.; PATERSON, M.; DESCOVICH, K.; PHILLIPS, C. J. Effects of olfactory and auditory enrichment on heart rate variability in shelter dogs. *Animals*, v. 10, n. 8, p. 1385, 2020.
- BEAVER, B. V. Equine behavioral medicine. **Academic Press**. 2019.
- BECKNELL, M. E.; FIRMIN, M. W.; HWANG, C. E.; FLEETWOOD, D. M.; TATE, K. L.; SCHWAB, G. D. Effects of listening to heavy metal music on college women: A pilot study. *College Student Journal*, v. 42, n. 1, p. 24, 2008.
- BOWMAN, A.; SCOTTISH, S. P. C. A.; DOWELL, F. J.; EVANS, N. P. 'Four Seasons' in an animal rescue centre; classical music reduces environmental stress in kennelled dogs. *Physiology & Behavior*, v. 143, p. 70-82, 2015.
- BUDZYŃSKA, Monika. Stress reactivity and coping in horse adaptation to environment. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 34, n. 8, p. 935-941, 2014.
- CALAMITA, S. C.; DA SILVA, L. P.; DE CARVALHO, M. D.; COSTA, A. B. A música e seus diversos impactos sobre a saúde e o bem-estar dos animais. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, v. 14, n. 3, p. 6-11, 2016.
- CARTER, C.; GREENING, L. Auditory stimulation of the stabled equine; the effect of different music genres on behaviour. In: **Proceedings of the 8th International Equitation Science Conference, Royal (Dick) Veterinary School, Edinburgh, 18th**. p. 167, 2012.
- CROUCH, K.; EVANS, B.; MONTROSE, V. T. The Effects of Auditory Enrichment on the Behaviour of Dairy Cows (*Bos taurus*). **British Society of Animal Science Annual Conference 2019**. 2019.

- 301 DA SILVA, S. M. B.; SCHLEMPER, V.; SCHRAN, R. G.; SIGNOR, P. D.; DE MELLO, S.  
 302 R. S. MUSICOTERAPIA EM CÃES. **SEPE - Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da**  
 303 **UFFS**, v. 9, n. 1, 2019.
- 304 DE LIMA, A. C. B.; DA FÉ, V. C. S.; HERNANDES, M. S. P.; SANTOS, V. M. O. Olfactory  
 305 Stimulation as Environmental Enrichment for Domestic Horses - A Review. **Animals**, v. 13, p.  
 306 3180, 2023.
- 307 DHUNGANA, S.; KHANAL, D. R.; SHARMA, M.; BHATTARAI, N.; TAMANG, D. T.;  
 308 WASTI, S.; ACHARYA, R. C. Effect of Music on Animal Behavior: A Review. **Nepalese**  
 309 **Veterinary**, v. 35, p. 142-149, 2018.
- 310 EKMAN, P. Facial action coding system (FACS). **A human face**. 2002.
- 311 FLETCHER, N. H. Sound production and hearing in diverse animals. **Acoustics Australia**, v.  
 312 13, p. 49-53, 1985.
- 313 GOMES, N. M.; GOTTARDI, F.; LOPES, F.; FAGUNDES, G.; NASCIMENTO, R. Adapta-  
 314 ções fisiológicas de equinos durante torneio de vaquejada. **Enciclopédia biosfera**, v. 11, n. 21,  
 315 2015.
- 316 GVARYAHU, G.; CUNNINGHAM, D. L.; VAN TIENHOVEN, A. Filial imprinting, environ-  
 317 mental enrichment, and music application effects on behavior and performance of meat strain  
 318 chicks. **Poultry Science**, v. 68, n. 2, p. 211-217, 1989.
- 319 HALL, J. E. Guyton & Hall. Tratado de fisiología médica. **Elsevier Health Sciences**, 2021.
- 320 HARTMAN, N.; GREENING, L. M. A Preliminary Study Investigating the Influence of Au-  
 321 ditory Stimulation on the Occurrence of Nocturnal Equine Sleep-Related Behavior in Stabled  
 322 Horses. **Journal Of Equine Veterinary Science**, v. 82, p. 102782, 2019.
- 323 HEFFNER, H. E.; HEFFNER, R. S. Sound localization in large mammals: localization of com-  
 324 plex sounds by horses. **Behavioral Neuroscience**, v. 98, n. 3, p. 541, 1984.

- 325 HEFFNER, R. S.; HEFFNER, H. E. Hearing in large mammals: Horses (*Equus caballus*) and  
326 cattle (*Bos taurus*). **Behavioral Neuroscience**, v. 97, n. 2, p. 299, 1983.
- 327 HEFFNER, R. S.; HEFFNER, H. E. Localization of tones by horses: use of binaural cues and  
328 the role of the superior olivary complex. **Behavioral Neuroscience**, v. 100, n. 1, p. 93, 1986.
- 329 HEMSWORTH, P. H. Human–animal interactions in livestock production. **Applied Animal**  
330 **Behaviour Science**, v. 81, n. 3, p. 185-198, 2003.
- 331 HOUP, K.; MARROW, M.; SEELIGER, M. A preliminary study of the effect of music on  
332 equine behavior. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 11, p. 691-737, 2000.
- 333 HUO, X.; WONGKWANKLOM, M.; PHONRSKDS, T.; NA-LAMPANG, P. Effects of pla-  
334 ying classical music on behavior of stabled horses. **Veterinary Integrative Sciences**, v. 19, n.  
335 2, p. 259-267, 2021.
- 336 JANCZAREK, I.; WILK, I.; STACHURSKA, A.; KRAKOWSKI, L.; LISS, M. Cardiac acti-  
337 vity and salivary cortisol concentration of leisure horses in response to the presence of an audi-  
338 ence in the arena. **Journal of Veterinary Behavior**, v. 29, p. 31–39, 2019.
- 339 KAY, R.; HALL, C. The use of a mirror reduces isolation stress in horses being transported by  
340 trailer. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, p. 237-243, 2009.
- 341 KĘDZIERSKI, W.; JANCZAREK, I.; STACHURSKA, A.; WILK, I. Comparison of effects of  
342 different relaxing massage frequencies and different music hours on reducing stress level in  
343 race horses. **Journal Of Equine Veterinary Science**, v. 53, p. 100-107, 2017.
- 344 KIM, S.; CHO, G. Validation of eye temperature assessed using infrared thermography as an  
345 indicator of welfare in horses. **Applied Sciences**, v. 11, n. 16, p. 7186, 2021.
- 346 KOGAN, R. L.; SCHOENFELD-TACHER, R.; SIMON, A. A. Behavioral effects of auditory  
347 stimulation on kennel dogs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 7, p. 268-275, 2012.

- 348 KONIG, U.; BORSTEL, E. K.; VISSER, C. H. Indicators of stress in equitation. **Applied Ani-**  
 349 **mal Behaviour Science**, v. 190, p. 43-56, 2017.
- 350 KOVAC, M.; IPPOLITOVA, T. V.; POZYABIN, S.; ALIEV, R.; LOBANOVA, V.; DRAKUL,  
 351 N.; RUTLAND, C. S. Equine Stress: Neuroendocrine Physiology and Pathophysiology. **In Up-**  
 352 **dates on Veterinary Anatomy and Physiology. IntechOpen**, 2022.
- 353 KRUEGER, K.; ESCH, L.; FARMER, K.; MARR, I. Basic needs in horses? —a literature re-  
 354 view. **Animals**, v. 11, p. 11– 16, 2021.
- 355 LAMPE, J. F.; ANDRE, J. Cross-modal recognition of human individuals in domestic horses  
 356 (*Equus caballus*). **Animal Cognition**, v. 15, p. 623-630, 2012.
- 357 LEBLANC, M. A. The mind of the horse. **Harvard University Press**, 2013.
- 358 LECOQ, L.; GAINS, M.; BLOND, L.; PARENT, J. Brainstem auditory evoked responses in  
 359 foals: reference values, effect of age, rate of acoustic stimulation, and neurologic deficits. **Jour-**  
 360 **nal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 1, p. 362-367, 2015.
- 361 LUDWIG, N.; GARGANO, M.; LUZI, F.; CARENZI, C.; VERGA, M. Technical note: Appli-  
 362 cability of infrared thermography as a non invasive measurements of stress in rabbit. **World**  
 363 **Rabbit Science**, v. 15, p. 199–206, 2007.
- 364 LUNDBLAD, J.; RASHID, M.; RHODIN, M.; HAUBRO ANDERSEN, P. Effect of trans-  
 365 portation and social isolation on facial expressions of healthy horses. **PLoS One**, v. 16, n. 6, p.  
 366 e0241532, 2021.
- 367 MARTIN, J. E.; ISON, S. H.; BAXTER, E. M. The influence of neonatal environment on piglet  
 368 play behaviour and post-weaning social and cognitive development. **Applied Animal Behavi-**  
 369 **our Science**, v. 163, p. 69-79, 2015.
- 370 MCGREEVY, P. Equine behavior: a guide for veterinarians and equine scientists. **Elsevier**  
 371 **Health Sciences**, 2012.

- 372 MCGREEVY, P.; CHRISTENSEN, J. W.; VON BORSTEL, U. K.; MCLEAN, A. **Equitation**  
373 **science. John Wiley & Sons, 2018.**
- 374 MELLOR, D. J.; BEAUSOLEIL, N. J. Equine welfare during exercise: An evaluation of brea-  
375 thing, breathlessness and bridles. **Animals**, v. 7, n. 6, p. 41, 2017.
- 376 MERKIES, K.; READY, C.; FARKAS, L.; HODDER, A. Eye blink rates and eyelid twitches  
377 as a non-invasive measure of stress in the domestic horse. **Animals**, v. 9, n. 8, p. 562, 2019.
- 378 MILLS, D. S.; RICCI-BONOT, C.; HALL, S. S. Mental health issues in the horse. **In: Mental**  
379 **health and well-being in animals.** Wallingford UK: CABI, p. 242-256, 2020.
- 380 MOTT, R. O.; HAWTHORNE, S. J.; MCBRIDE, S. D. Blink rate as a measure of stress and  
381 attention in the domestic horse (*Equus caballus*). **Scientific Report**, v. 10, p. 1–8, 2020.
- 382 NEVEUX, C.; FERARD, M.; DICKEL, L.; BOUET, V.; PETIT, O.; VALENCHON, M. Clas-  
383 sical music reduces acute stress of domestic horses. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical**  
384 **Applications and Research**, v. 15, p. 81, 2016.
- 385 NIELSEN, B. L. Making sense of it all: The importance of taking into account the sensory  
386 abilities of animals in their housing and management. **Applied Animal Behaviour Science**, v.  
387 205, p. 175-180, 2018.
- 388 ÖDBERG, F. O. A study of the hearing ability of horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 10,  
389 n. 2, p. 82-84, 1978.
- 390 PALME, R. Non-invasive measurement of glucocorticoids: Advances and problems. **Physio-**  
391 **logy & Behavior**, v. 199, p. 229–243, 2019.
- 392 PAWLUSKI, J.; JEGO, P.; HENRY, S.; BRUCHET, A.; PALME, R.; COSTE, C.; HAUSBER-  
393 GER, M. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compro-  
394 mised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). **PLoS One**, v. 12, n. 9, p. e0182257, 2017.

- PAZ, J. E. G. **Avaliação da musicoterapia espécie-específica para a redução de fatores indicativos de estresse em gatos hospitalizados.** 2020. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.
- PINKERTON, M. **Effects of different genres of music on milk yield, milking duration, and behavior of dairy cows.** 2022. 30 f. Thesis (Doctorate in Animal Science) - Department of Animal Sciences, The Ohio State University, Ohio, 2022.
- RASHID, M.; SILVENTOINEN, A.; GLEERUP, K. B.; ANDERSEN, P. H. Equine Facial Action Coding System for determination of pain-related facial responses in videos of horses. **Plos one**, v. 15, n. 11, p. e0231608, 2020.
- REDAELLI, V.; ROSCIANO, C.; LUZI, F.; MINERO, M.; FERRARI, L.; FERRUCCI, F.; VERGA, M. Non invasive techniques to assess welfare on sport horses: thermography and heart rate variability. **In: Nuove acquisizioni in materia di ippologia= New findings in equine practice.** Università degli studi di Torino, p. 25-26, 2010.
- RIETMANN, T. R.; STUART, A. E. A.; BERNASCONI, P.; STAUFFACHER, M.; AUER, J. A.; WEISHAUPT, M. A. Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 88, p. 121-136, 2004.
- ROBBINS, L.; MARGULIS, S. W. The effects of auditory enrichment on gorillas. **Zoo Biology**, v. 33, n. 3, p. 197-203, 2014.
- RØRVANG, M. V.; NIELSEN, B. L.; MCLEAN, A. N. Sensory abilities of horses and their importance for equitation science. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, p. 633, 2020.
- SAMPAIO, W. M. C. **Influência da musicoterapia no comportamento de animais em desenvolvimento.** 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

- 420 SOUZA, A. C. G. **Enriquecimento ambiental como ferramenta na manutenção do bem-**  
 421 **estar de animais selvagens em cativeiro.** 2022. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Gra-  
 422 duação em Zootecnia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2022.
- 423 STACHURSKA, A.; JANCZAREK, I.; WILK, I.; KEDZIERSKI, W. Does music influence  
 424 emotional state in race horses? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 8, p. 650-656,  
 425 2015.
- 426 STEVENS, M. Anti-predator coloration and behaviour: a longstanding topic with many outs-  
 427 tanding questions. **Current Zoology**, v. 61, n. 4, p. 702-707, 2015.
- 428 STEWART, M.; WEBSTER, J. R.; SCHAEFER, A. L.; STAFFORD, K. J. Infrared thermo-  
 429 graphy and heart rate variability for non-invasive assessment of animal welfare. **ANZCCART**  
 430 **Humane Science News**, v. 21, p. 1-4, 2008.
- 431 SUEUR, C.; PELÉ, M. Importance of living environment for the welfare of captive animals:  
 432 Behaviours and enrichment. *Animal Welfare: From Science to Law*; La Fondation Droit Ani-  
 433 mal, **Éthique et Sciences: Paris, France**, p. 175-188, 2019.
- 434 SUNG, H.; CHANG, A. M.; ABBEY, J. An implementation programme to improve nursing  
 435 home staff's knowledge of and adherence to an individualized music protocol. **Journal of Cli-**  
 436 **nical Nursing**, v. 17, n. 19, p. 2573-2579, 2008.
- 437 TORCIVIA, C.; MCDONNELL, S. Equine discomfort ethogram. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 580,  
 438 2021.
- 439 TRAPPE, H. J. Role of music in intensive care medicine. **International Journal of Critical**  
 440 **Illness and Injury Science**, v. 2, n. 1, p. 27, 2012.
- 441 UETAKE, K.; HURNIK, J. F.; JOHNSON, L. Effect of music on voluntary approach of dairy  
 442 cows to an automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 53, n. 3, p. 175-  
 443 182, 1997.

- 444 USBERCO, J.; MARTINS, J.; SCHECHTMANN, E.; FERRER, L. C.; VELLOSO, H. **Com-**  
445 **panhia das Ciências, 9º ano. 4. ed.** São Paulo: Saraiva, p. 304, 2015.
- 446 VALERA, M.; BARTOLOMÉ, E.; SÁNCHEZ, M. J.; MOLINA, A.; COOK, N.; SCHAEFER,  
447 A. Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competi-  
448 tions. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, p. 827-830, 2012.
- 449 VINKERS, C. H.; PENNING, R.; HELLHAMMER, J.; VERSTER, J. C.; KLAESSENS, J. H.;  
450 OLIVIER, B.; KALKMAN, C. J. The effect of stress on core and peripheral body temperature  
451 in humans. **Stress**, v. 16, p. 520-530, 2013.
- 452 VITALE, V.; BALOCCHI, R.; VARANINI, M.; SGORBINI, M.; MACERATA, A.; SIGHI-  
453 ERI, C.; BARAGLI, P. The effects of restriction of move-ment on the reliability of heart rate  
454 variability measurements in the horse (*Equus caballus*). **Journal of Veterinary Behavior: Cli-**  
455 **nical Applications and Research**, v. 8, p. 400–403, 2013.
- 456 WATHAN, J.; BURROWS, A. M.; WALLER, B. M.; MCCOMB, K. EquiFACS: The equine  
457 facial action coding system. **PLoS one**, v. 10, p. e0131738, 2015.
- 458 WILSON, M. E.; PHILLIPS, C. J. C.; LISLE, A. T.; ANDERSON, S. T.; BRYDEN, W. L.;  
459 CAWDELL-SMITH, A. J. Effect of music on the behavioural and physiological responses of  
460 stabled weanlings. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, p. 321-322, 2011.
- 461 WILSON, W. J.; MILLS, P. C.; DZULKARNAIN, A. A. Use of BAER to identify loss of  
462 auditory function in older horses. **Australian Veterinary Journal**, v. 89, n. 3, p. 73-76, 2011.



## Artigo

# Efeito do enriquecimento sonoro sobre respostas faciais e fisiológicas de cavalos castrados e éguas da raça Pantaneira sob estresse de curta duração

Vanessa Cristini Sebastião da Fé <sup>1\*</sup>, Ana Caroline Bini de Lima <sup>1</sup>, Maria Simara Palermo Hernandez <sup>1</sup>, Marina De Nadai Bonin Gomes<sup>1</sup>, Viviane Maria Oliveira dos Santos <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79070-900, Brasil; carolinebini@hotmail.com (A.C.B.L.); mariasimarap@gmail.com (M.S.P.H.); marina.bonin@ufms.br (M.D.N.B.G); viviane.oliveira@ufms.br (V.M.O.d.S.)

\*Correspondente: vanessacristini.zoo@gmail.com

**Resumo simples:** O conceito de bem-estar animal refere-se ao estado em que o indivíduo é capaz de lidar com pressões impostas, mantendo um nível adequado de saúde mental e física. Considerando a responsabilidade sobre a qualidade de vida dos animais de produção, novas abordagens com o uso da música estão sendo pesquisadas de modo que priorize o bem-estar e amenize o impacto causado pelo estresse. O enriquecimento ambiental sensorial sonoro consiste em reproduzir som para animais que não têm acesso a ambientes abertos ou foram temporariamente isolados. O sistema auditivo equino possui a capacidade de localizar sons ao redor, e focar em um sinal auditivo específico, e pesquisas vem sendo desenvolvidas a fim de explorar esta capacidade, utilizando a música como forma de proporcionar relaxamento. Estratégia como esta têm se mostrado promissora com a vantagem de ser facilmente incorporada devido ao seu baixo custo de instalação e manejo.

**Resumo:** Objetivou-se com o estudo avaliar estímulos auditivos para equinos durante isolamento social e restrição de movimentos, e a capacidade destes em promover a redução de respostas de estresse. Para tanto, dois experimentos foram realizados com equinos da raça Pantaneira (n=8), composto pelo experimento I (4 fêmeas) e experimento II (4 machos castrados) em delineamento quadrado latino 4x4 com os tratamentos: experimental (clássica, country e new age) e controle (sem música). Cada indivíduo foi levado individualmente ao tronco de contenção, e administrado o tratamento experimental ou controle. Parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, variabilidade da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura ocular e superficial), assim como expressões faciais foram registrados. Durante as coletas também foram monitorados parâmetros microclimáticos. A exposição às músicas 9ª sinfonia de Beethoven (gênero clássica) e Rabl in my shoes de Hank Williams Jr (gênero country) promovem redução de estresse em éguas da raça Pantaneira. Os cavalos castrados apresentaram resposta menos expressiva, demonstrando possível preferência pela música Horsing around de Janet Marlow (gênero new age). A música pode ser utilizada como enriquecimento sonoro para equinos na circunstância específica do presente trabalho.

**Citation:** To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Last name

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date



**Copyright:** © 2024 by the author(s).

Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons

tribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Palavras-chave:** bem-estar; comportamento; estímulo auditivo; expressão facial; música; percepção auditiva

## 1. Introdução

Os equinos, assim como outras espécies domesticadas, possuem requisitos ambientais que são essenciais para o seu bem-estar. Quando as necessidades básicas da espécie não são atendidas, o bem-estar é comprometido [1]. Deste modo, o ambiente doméstico pode ser extremamente desafiador, principalmente para os animais mantidos em condições subótimas, como ocorre em sistemas intensivos de criação, em que a expressão do comportamento natural é limitada [2].

É comum que equinos estabulados sejam mantidos em isolamento social. Entretanto, para uma espécie que naturalmente vive em manada, é ideal o contato com coespecíficos devido à pressão evolutiva e, consequente, vulnerabilidade como presa [3]. Nesse contexto, a restrição de movimentos advinda das limitações físicas impostas aos animais criados em sistema intensivo é extremamente prejudicial, se considerarmos que, os cavalos em vida livre percorrem quilômetros de distância diariamente [4]. Atrelado ao isolamento social e restrição de movimentos, o manejo habitual realizado em tronco de contenção seja para intervenção médica, controle sanitário ou reprodutivo, pode acarretar estresse [5], e consequente, impacto negativo no bem-estar.

Diante deste cenário, o enriquecimento ambiental sonoro surge com a possibilidade de priorizar qualidade de vida e zelar pelo bem-estar dos equinos, reproduzindo som para animais que não têm acesso à ambiente aberto ou foram temporariamente isolados, podendo ser reproduzido também quando há a necessidade de introduzir um animal em recinto ou área desconhecida, como forma de propiciar conforto, relaxamento e tranquilidade [6].

Pesquisas foram realizadas anteriormente avaliando o efeito da música sobre os parâmetros fisiológicos e comportamentais de equinos. [7] avaliaram o efeito da música de gênero new age em cavalos geriátricos durante 28 dias, e comprovaram relaxamento destes animais. Além disso, a música instrumental de violão pode ter influência positiva em cavalos de corrida árabes quando tocada por 5 horas diariamente [8], o mesmo tipo de música foi testado por [9] afirmando que os efeitos positivos da música eram proeminentes em 3 horas diárias, e outro grupo com apenas 1 hora.

Observando na literatura predominância de trabalhos com as músicas sendo avaliada em período de longa duração e visando a possibilidade de obter novas estratégias, o presente estudo buscou investigar o efeito de diferentes gêneros musicais, previamente testados e relatados para espécie equina, e sua capacidade de redução de respostas de estresse no período de curta duração.

Como forma de identificar tais respostas, o uso de indicadores por meio de métodos não invasivos torna-se eficiente para expressar alterações nos parâmetros fisiológicos [10].

Ainda para complementar de maneira inédita, as expressões faciais foram analisadas no contexto de exposição a música, das quais têm sido associadas a determinados estados emocionais, como no caso do estresse, servindo como ferramenta para avaliação do bem-estar [11]. Poucos estudos foram realizados em cavalos para avaliar as expressões faciais durante situações de manejo potencialmente estressantes, por exemplo, tosquia [12], transporte [13], restrição alimentar [14] e isolamento social [13].

Portanto, para que seja possível a utilização segura e eficiente do enriquecimento sonoro se faz necessário estudos e novas pesquisas com diversidade de gêneros musicais, em uma variedade de contextos relacionados aos desafios usuais enfrentados por equinos no ambiente doméstico. Desta forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar estímulos auditivos para equinos, e a capacidade destes em promover a redução das respostas de estresse durante o isolamento social e a restrição de movimentos.

2. Materiais e Métodos

Todos os procedimentos realizados nestes estudos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS, Campo Grande, Brasil) sob o protocolo nº 1.222/2022.

2.1 Local

O experimento I e II foram conduzidos com intervalo de duas semanas no verão de 2023, ambos na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) localizada no município de Terenos, MS, região Centro-Oeste do Brasil. O município está localizado a 20°44'74" S e 54°84'87" O. De acordo com a classificação Köppen, o clima da região está na faixa de transição entre Cfa e AW tropical úmido, precipitação média anual entre 1500 mm a 1700 mm.

2.2 Parâmetros microclimáticos

Durante as avaliações foram coletados em intervalos de dez minutos os seguintes parâmetros microclimáticos: temperatura de bulbo seco do ar (Tbs, °C), temperatura de bulbo úmido do ar (Tbu, °C), temperatura de globo negro (Tgn, °C), temperatura de ponto de orvalho em (Tpo, °C) e umidade relativa do ar (UR%).

Para as coletas foram utilizados termo higrômetros digitais (AK172®; AKSO, São Leopoldo, RS, Brasil), inseridos em abrigos meteorológicos. Para a temperatura de globo negro, foi utilizado o mesmo modelo de termo higrômetro encapsulado em bolas plásticas de PVC (0,15 cm de diâmetro), pintadas externamente com tinta preta fosco de acordo com o proposto por [15].

Os equipamentos foram alocados em dois locais: em pleno sol, e dentro da instalação onde os animais permaneceram durante os testes. Os aparelhos foram instalados a 1,50 m da superfície do solo.

Para avaliação da condição de conforto térmico dos animais foi utilizado o Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), proposto por [16].

Por meio dos dados coletados foi possível caracterizar o ambiente ao qual os animais estavam expostos, e a condição de conforto térmico em cada experimento (Tabela 1).

Tabela 1. Médias dos parâmetros microclimáticos e índice de temperatura do globo negro (ITGU) mensurados durante o período das coletas de dados.

| Experimento | Temperatura do ar (°C) | Umidade Relativa (%) | ITGU |
|-------------|------------------------|----------------------|------|
| 1           | 31,5                   | 63,8                 | 80,6 |
| 1           | 30,5                   | 68,4                 | 80,2 |
| 1           | 28,1                   | 75,2                 | 78,0 |
| 1           | 28,9                   | 72,1                 | 78,1 |
| Média       | 29,8                   | 69,9                 | 79,2 |
| DP          | 1,5                    | 4,9                  | 1,4  |
| 2           | 23,7                   | 91,2                 | 73,0 |
| 2           | 22,0                   | 93,2                 | 71,0 |
| 2           | 26,4                   | 82,5                 | 74,2 |
| 2           | 30,3                   | 70,9                 | 77,3 |
| Média       | 25,6                   | 84,5                 | 73,9 |
| DP          | 3,6                    | 10,2                 | 2,6  |

De acordo com o índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU), o ambiente ao qual os animais estavam inseridos no experimento I (ITGU média: 79,2) foi caracterizado pela condição de moderado estresse térmico, enquanto no experimento II (ITGU média: 73,9) próximo ao conforto térmico para equinos. O ITGU tem sido sugerido como um dos índices mais adequados para avaliar a condição de conforto térmico de animais nos trópicos [17].

O cavalo Pantaneiro é uma raça brasileira que se formou na região do Pantanal após séculos de adaptação às condições adversas de cheia e seca, com elevadas temperaturas da região [18, 19, 20], fazendo com que as condições ambientais na presente pesquisa sejam consideradas típicas, bem tolerada dentro do cenário adaptativo da espécie.

Além disso, o delineamento experimental escolhido considerou o efeito das condições ambientais como fator no modelo estatístico de ambos os estudos, e esta fonte de variação foi isolada para não influenciar os resultados dos tratamentos.

### 2.3 Animais e instalação

Foram selecionados para participar do primeiro experimento quatro fêmeas equinas da raça Pantaneira, com idade média de  $5 \pm 0,9$  anos, pesando  $367,5 \pm 23,6$  kg. Posteriormente, no segundo experimento foram selecionados quatro equinos machos castrados da raça Pantaneira, com idade média de  $5 \pm 1,8$  anos, pesando  $388,7 \pm 5,4$  kg.

Os animais pertencem à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), criados com a finalidade de pesquisa. Desde o nascimento são mantidos em grupos sociais alojados em piquetes com acesso ad libitum à pastagem (*Panicum maximum* cv. Massai), sal mineral e água, e permaneceram nessas condições durante o período experimental quando não estavam sendo avaliados.

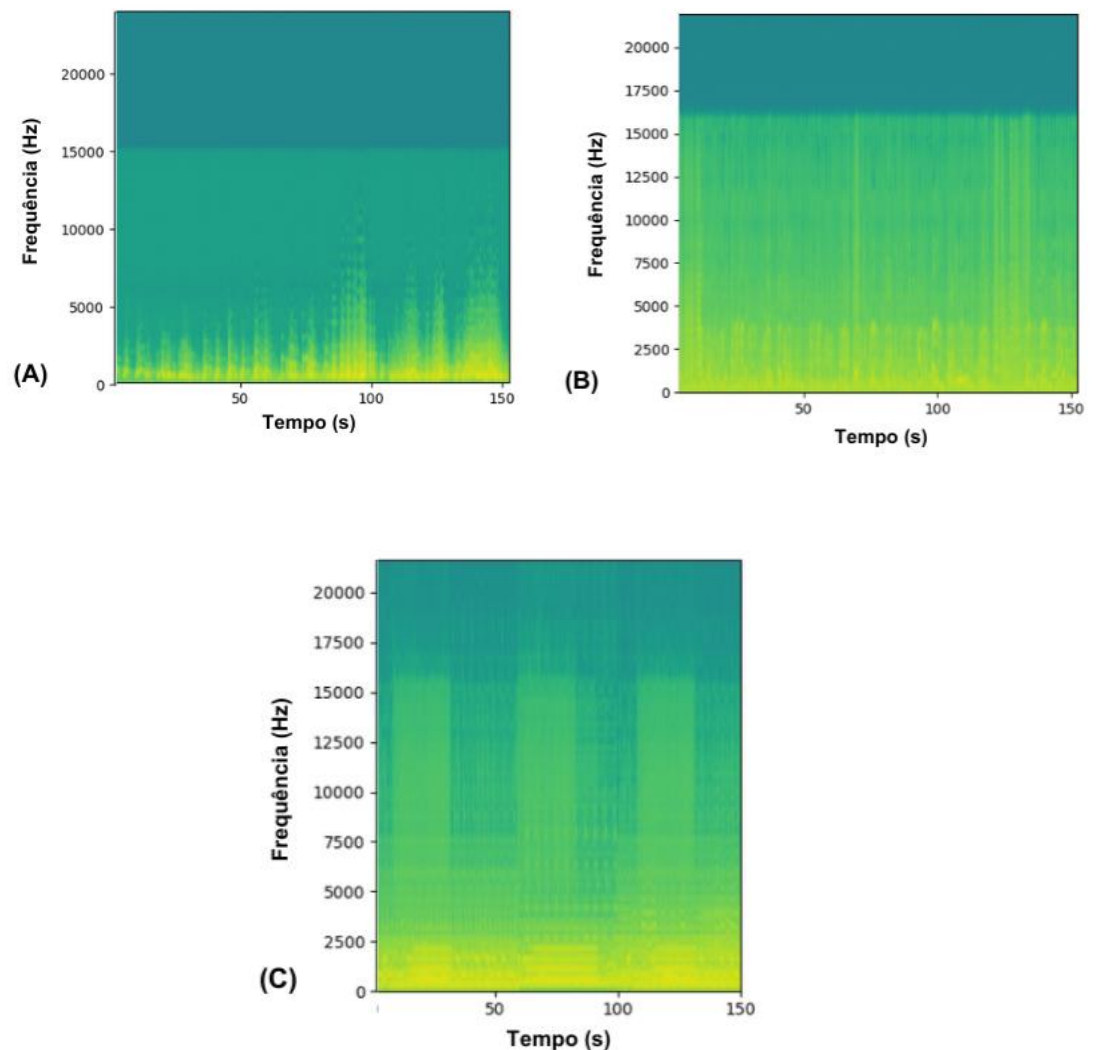
### 2.4 Delineamento experimental

O delineamento utilizado em ambas pesquisas foi o quadrado latino 4x4 com tratamento experimental (gênero musical) e tratamento controle (sem música). Foram avaliados individualmente quatro animais por dia no período da manhã (7h30 às 10h30). Cada equino recebeu todos os tratamentos de forma aleatória (um tratamento por dia), no mesmo horário, permitindo assim que cada animal servisse como seu próprio controle.

Os gêneros com os respectivos estilos musicais escolhidos para estimulação auditiva foram avaliados em estudos anteriores para a espécie equina, sendo: Clássica (Beethoven – 9ª sinfonia [21, 22]), Country (Hank Williams Jr – Ramblin in my shoes [23]) e New Age (Janet Marlow - Horsing around [7, 24]). A compositora Janet Marlow, especialista em música para animais, desenvolveu a música ‘Horsing around’ ajustada especialmente a audição equina (My Pet Speaker, Pet Acoustics Inc).

O espectrograma (Figura 1) é uma ferramenta para descrever sinais acústicos complexos, através dele é possível visualizar a gravação sonora em três dimensões: frequência (Hz), tempo (s) e amplitude (dB). A amplitude é representada pela intensidade da cor, onde cores mais quentes ou mais escuras refletem amplitudes mais altas [25]. Desta maneira, é possível saber como o espectro da frequência de uma música se altera ao longo do tempo, sendo que, frequências mais altas caracterizam sons agudos e frequências mais baixas os sons graves [26, 27, 28].

Na música clássica ‘9ª sinfonia’ nota-se frequência máxima de 15.000 Hz com picos de frequências mais baixas, enquanto na música country ‘Ramblin in my shoes’ a frequência máxima em torno de 16.000 Hz contínua ao longo do tempo. A música new age ‘Horsing around’ encontra-se uma frequência máxima de 20.000 Hz com oscilações ao longo do tempo. Através dos espectrogramas e os sinais acústicos descritos, observamos que as músicas dos gêneros clássica e country apresentam tons mais graves, e a música de gênero new age tons mais agudos.



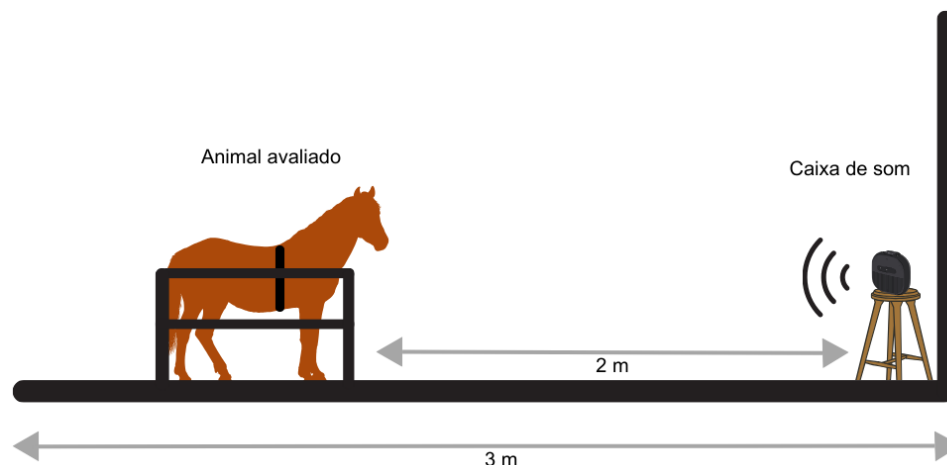
**Figura 1.** Espectrogramas dos tratamentos experimentais. **(A)** Clássica (Beethoven - 9ª sinfonia); **(B)** Country (Hank Williams Jr - Ramblin in my shoes); **(C)** New Age (Janet Marlow - Horsing around)

### 2.5 Protocolo experimental

Antes de iniciar o período experimental todos os animais passaram por um período de adaptação para habituação ao local de coleta, ao manejo, e ao avaliador. Para tal, no decorrer de uma semana os animais foram levados ao tronco de contenção onde permaneceram por três minutos e expostos aos equipamentos utilizados ao longo do experimento.

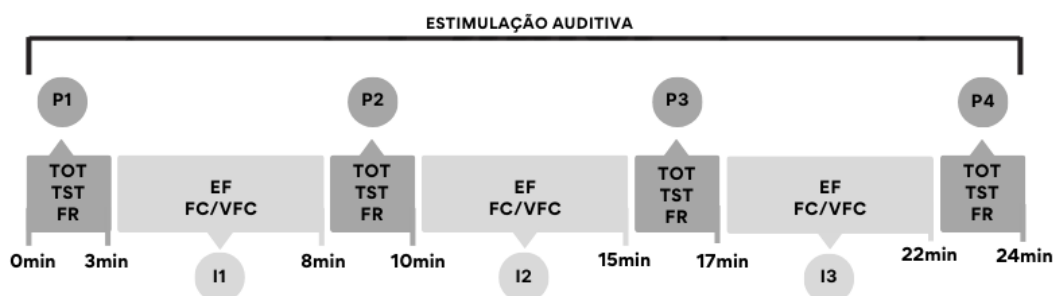
Durante o período experimental, para o isolamento social e restrição de movimentos cada indivíduo foi levado ao tronco de contenção em uma área coberta, com laterais parcialmente fechadas, impossibilitando o contato visual com coespecíficos, e então administrado o tratamento experimental ou controle.

Para tal, utilizou-se uma caixa de som JBL GO3 posicionada em frente ao animal à 0,70 m de altura em relação ao solo, à dois metros de distância, por 24 minutos para estimulação auditiva. Todas as músicas foram homogeneizadas em amplitude por meio do App Decibelímetro (Splend Apps) para que atingissem 60-70dB no centro da configuração experimental, um nível sonoro correspondente às condições naturais [21, 22, 29] (Figura 2). Durante este período foi adotado pelo avaliador uma expressão facial neutra para evitar possível influência sobre o comportamento.



**Figura 2.** Configuração experimental

Os parâmetros fisiológicos e a expressão facial foram avaliados durante a apresentação do estímulo auditivo. Os indicadores temperatura ocular por termografia infravermelha (TOT), temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST) e frequência respiratória (FR) foram coletados pontualmente nos pontos P1, P2, P3 e P4. Já os indicadores expressões faciais (EF) e frequência cardíaca e variabilidade da frequência cardíaca (FC/VFC) foram coletados continuamente ao longo de intervalos de cinco minutos identificados como I1, I2 e I3 (Figura 3).



**Figura 3.** Protocolo experimental. TOT = temperatura ocular por termografia infravermelha; TST = temperatura superficial por termômetro infravermelho; FR = frequência respiratória; EF = expressões faciais; FC = frequência cardíaca; VFC = variabilidade da frequência cardíaca

## 2.6 Parâmetros fisiológicos

### 2.6.1 Frequência cardíaca (FC) e variabilidade da frequência cardíaca (VFC)

Os parâmetros frequência cardíaca, e a variabilidade da frequência cardíaca foram mensurados com auxílio do transmissor de frequência cardíaca Polar H10 (Polar Electro Oy, Kempele, Finlândia). O transmissor de frequência cardíaca foi fixado à cinta elástica e posicionado na região torácica entre o 4º e 5º espaço intercostal do lado esquerdo do tórax. A cinta foi embebida em água e ajustada no corpo dos animais 10 minutos antes do início da coleta de dados. Visando melhorar a transmissão dos sinais elétricos do corpo para os eletrodos, também foi realizada limpeza dos pelos com água.

Posteriormente, os dados coletados foram exportados através do App Elite HRV (Elite HRV, Asheville, NC, USA), e a análise dos dados foi realizada através do software Kubios HRV standard, versão 3.5.0 (Kubios Oy, Kuopio, Finlândia). Para análise, uma correção de artefato média foi aplicada a fim de reduzir o erro em todo o conjunto da amostra. Todas as análises foram revisadas quanto a porcentagem de artefatos corrigidos,

sendo admitido apenas correção menor ou igual a 15%. Em seguida, amostras de cinco minutos foram selecionadas para análise dos índices de VFC e média da FC.

Foram selecionados os seguintes índices de VFC referentes ao domínio da frequência: potência de baixa frequência (Low Frequency - LF), potência de alta frequência (High Frequency - HF) e razão de baixa frequência para alta frequência (LF/HF).

#### 2.6.2 Frequência respiratória (FR)

A frequência respiratória, mensurada em movimentos por minuto (mpm), foi realizada pela contagem dos movimentos do flanco por 30 segundos. Para se obter o valor de frequência foi multiplicado o valor obtido em 30 segundos por 2, para o cálculo de movimentos respiratórios por um minuto.

#### 2.6.3 Temperatura ocular por termografia infravermelha (TOT)

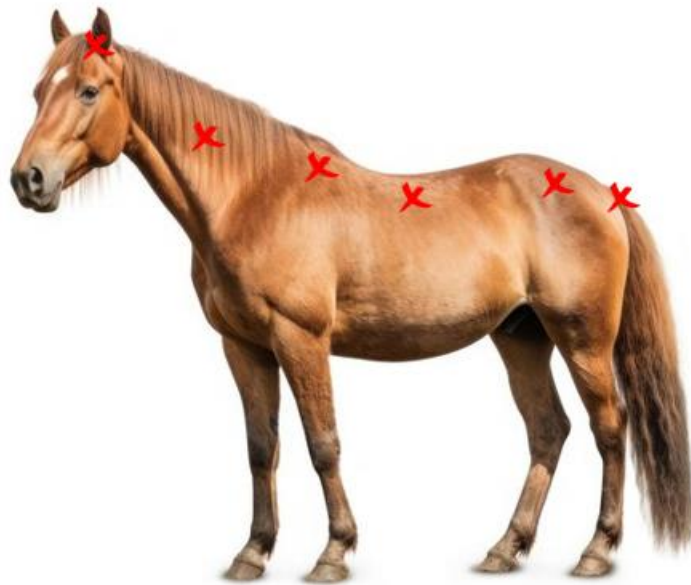
Foram coletadas imagens termográficas do olho para mensuração da temperatura superficial na região do canto medial, como proposto por [10]. As imagens foram coletadas do lado esquerdo num ângulo de 90° (graus) do plano sagital do animal por meio de uma câmera termográfica (S60, Caterpillar FLIR camera, Vernon Hills, IL, USA), que foi direcionada ao olho do animal à distância de 0,5 m. A emissividade do aparelho foi ajustada em 0,98, valor correspondente ao trabalhado em superfícies teciduais. O software FLIR tools, versão 6.4.18039.1003 (FLIR Systems Inc, Oregon, EUA) foi usado para analisar as imagens.

#### 2.6.4 Temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST)

A temperatura superficial por infravermelho foi aferida por meio de um termômetro digital portátil com dispositivo de luz infravermelha (Mult Temp Portátil, Incoterm, Porto Alegre, RS, Brasil). As mensurações foram realizadas do lado esquerdo dos animais, e os pontos avaliados foram (Figura 4):

- Timpânica: ponto central da membrana timpânica, sob a orelha esquerda do animal [30];
- Superficial de pescoço: ponto médio da linha que une o ponto mais caudal do osso Atlas com o ponto mais proeminente da crista escapular. Esta região do pescoço tem uma rica irrigação sanguínea, e esta metodologia foi baseada nos estudos de [31];
- Superficial de cernelha: localizada na linha mediana, região ímpar situada em posição cranial, na parte dorsal superior do tronco [32];
- Superficial de dorso: ponto médio da linha que une o ponto mais caudal da cartilagem escapular com a tuberosidade ilíaca. Este ponto mostra grande variabilidade térmica, e é considerado representativo da média da superfície corporal, conforme metodologia adotada por [33];
- Superficial de garupa: ponto médio da linha que une a tuberosidade ilíaca com a inserção da cauda segundo metodologia proposta por [34];
- Superficial da inserção da cauda: ponto único da junção das vértebras sacral e caudal, projeção da artéria coccígea a 10 cm do início da cauda na porção ventral [33].

O termômetro infravermelho foi direcionado sobre o pelame do animal à uma distância de 1 m, com exceção da timpânica e inserção da cauda que foram coletadas à uma distância de 0,5 m. Para avaliação foram selecionadas a temperatura timpânica e temperatura superficial corporal (obtida a partir da média de todos os pontos coletados excluindo a timpânica).



**Figura 4.** Ilustração dos pontos de coleta das temperaturas timpânica, e superficiais do pescoço, cernelha, dorso, garupa e inserção da cauda (fonte: adaptado de freep!k.com)

## 2.7 Expressões faciais (EF)

Durante todo o período que o animal permaneceu no troco de contenção gravações de vídeo foram realizadas usando a câmera digital Canon EOS SL3 (Canon Inc., São Paulo, SP, Brasil). A resolução foi definida para 1080 p a 30 fps e os vídeos foram exportados no formato mp4. A câmera foi posicionada à 1,5 m de distância com um ângulo de aproximadamente 45° (graus) do plano medial do cavalo.

O EquiFACS, conforme descrito por [11] foi utilizado para avaliação da expressão facial. Para este trabalho foram selecionadas (Quadro 1) quatro unidades de ação (AUs) e sete descritores de ação (ADs) e um código de visibilidade (CV), que correspondem a expressões faciais que demonstraram ser relevantes para avaliação de equinos submetidos a condições de estresse em trabalhos realizados anteriormente [12, 13, 14].

Os códigos designados AUs representam a contração de um músculo facial específico (ou conjunto de músculos) e os movimentos faciais resultantes [34]. Os ADs também são usados para movimentos faciais, só que gerais onde a base muscular não pode ser identificada ou é o resultado de um conjunto muscular diferente [11].

Todos os vídeos foram codificados por um único codificador certificado pelo EquiFACS com concordância inter-avaliadores maior que 70% e intra-avaliador de 98%, utilizando o software BORIS, versão 6.0.6 (Friard and Gamba, Universidade de Turin, Turin, Itália). Para codificação foram selecionados clipes de 5 minutos de duração obtidos durante o período de permanência dos animais no tronco de contenção (I1, I2 e I3).

Amostragem focal contínua foi usada para registrar as expressões faciais de cada cavalo. Os vídeos foram observados pela primeira vez em velocidade normal e em seguida, ao longo de pelo menos três vezes novamente em câmera lenta, ou em frame-by-frame. Foi avaliada a frequência por minuto de cada um dos códigos propostos, com exceção do CV73, em que foi avaliada a duração em segundos. O CV73 foi usado para denotar por quanto tempo a face inteira não estava visível para codificação.

Dessa forma, foi possível monitorar por quanto tempo a face estava em posição visível para codificação, ou não, em cada intervalo de 5 minutos. Para cálculo da frequência por minuto dos AUs e ADs apenas o tempo em que a face estava em posição visível para codificação foi considerada:

$$\text{Frequência por minuto AU ou AD} = \text{n}^\circ \text{ total de registros} \% 5 \text{ min} - \text{CV73}$$

**Quadro 1.** Resumo dos códigos pertencentes ao EquiFACS selecionados para avaliação da expressão facial de cavalos submetidos à isolamento social e restrição de movimentos.

| I. Unidade de ação (AU)                  |                                                                                                             |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Códigos                                  | Critérios mínimos para codificar                                                                            |
| AU143: Fechamento dos olhos              | Ambas as pálpebras devem se mover juntas para cobrir o olho, e essa ação dura mais de meio segundo          |
| AU145: Piscada                           | Ambas as pálpebras devem se mover juntas para cobrir o olho, e essa ação deve ser revertida em meio segundo |
| AU47: Meia piscada                       | Redução na abertura do olho                                                                                 |
| AU101: Levantador de sobrancelha interna | Movimento dorsal da pele acima da região interna do olho                                                    |
| II. Descritores de ação (AD)             |                                                                                                             |
| AD1: Aumento do branco dos olhos         | Um aumento na porcentagem de esclera branca visível                                                         |
| AD19: Exposição da língua                | A língua é exposta e vai além dos dentes                                                                    |
| AD38: Dilatação da narina                | Um aumento na abertura da narina                                                                            |
| AD81: Mastigação                         | Critérios mínimos para codificar não descritos                                                              |
| EAD101: Orelhas para frente              | Rotação rostral do pavilhão auricular                                                                       |
| EAD104: Orelhas para trás                | O pavilhão auricular rotaciona caudalmente                                                                  |
| CV73: Face Inteira Não Visível           | Toda a face está fora de vista ou não pode ser vista claramente                                             |

## 2.8 Descrição estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R com o ambiente de desenvolvimento integrado RStudio (Version 4.1.0 (2021-06-29), RStudio, Inc.). As funções e os pacotes utilizados foram apresentados no formato ‘pacote::função’ correspondente à linguagem de programação em R. Para todos os testes foi considerada significância de 5%.

Inicialmente, foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson (`Hmisc::rcorr`) entre as variáveis que derivam da frequência cardíaca (frequência cardíaca média, LF, HF e LF/HF). Dentre aquelas altamente correlacionadas apenas uma (LF/HF) foi selecionada para o uso na etapa inferencial (modelagem), baseado na menor variância e maior importância biológica ao objetivo do estudo.

Em seguida foi feita uma análise inferencial. Para identificar diferenças entre os tratamentos (clássica *vs* country *vs* controle *vs* new age) e ao longo do tempo (P1 *vs* P2 *vs* P3 *vs* P4 ou I1 *vs* I2 *vs* I3) foram conduzidos modelos lineares multinível (`lme4::lmer`) para aquelas variáveis resposta (LF/HF, frequência respiratória, temperatura auricular, temperatura ocular, temperatura corporal, levantador da sobrancelha interna - AU101, dilatação da narina - AD38, orelhas para frente - EAD101, orelhas para trás - EAD104, mastigação - AD81, piscada - AU145 e meia piscada - AU47) em que os resíduos do modelo apresentaram aderência à normalidade pelo teste de Cramer-Von Mises (`nortest::cvm.test`). A comparação múltipla no post-hoc test foi conduzida com o procedimento de Tukey (`lsmeans::lsmeans` e `multcomp::cld`).

As variáveis frequência cardíaca média, aumento do branco do olhos (AD1), posição da língua (AD19) e fechamento dos olhos (AU143) não atingiram aderência à normalidade mesmo após transformações, impossibilitando sua modelagem, portanto, a comparação entre cada tratamento em um mesmo tempo e a comparação ao longo do tempo para cada tratamento foi feita com teste de Friedman (`stats::friedman.test` e `PMCMRplus::frdAllPairsNemenyiTest`). Os resultados foram ilustrados com gráficos de caixa (`ggplot2::ggplot` e `ggplot2::geom_boxplot`).

Posteriormente, foi feita uma análise exploratória. Para analisar a dinâmica múltipla entre as expressões faciais avaliadas neste experimento foi conduzida uma análise de componentes principais (ACP) baseada em uma matriz de correlação (`stats::princomp`). O número ótimo de componentes principais (CP) a serem retidos na ACP foi determinado pela análise paralela de Horn (`psych::fa.parallel`). Como critério para determinar associação entre cada variável e o CP foram usados os valores de carga maiores que 0,40 ou menores que -0,40. Para ilustrar tais resultados foram feitos dois biplots colorindo as observações de acordo com os tratamentos e com os pontos de coleta/intervalos para uma análise qualitativa (julgamento visual) de sua distribuição.

3. Resultados

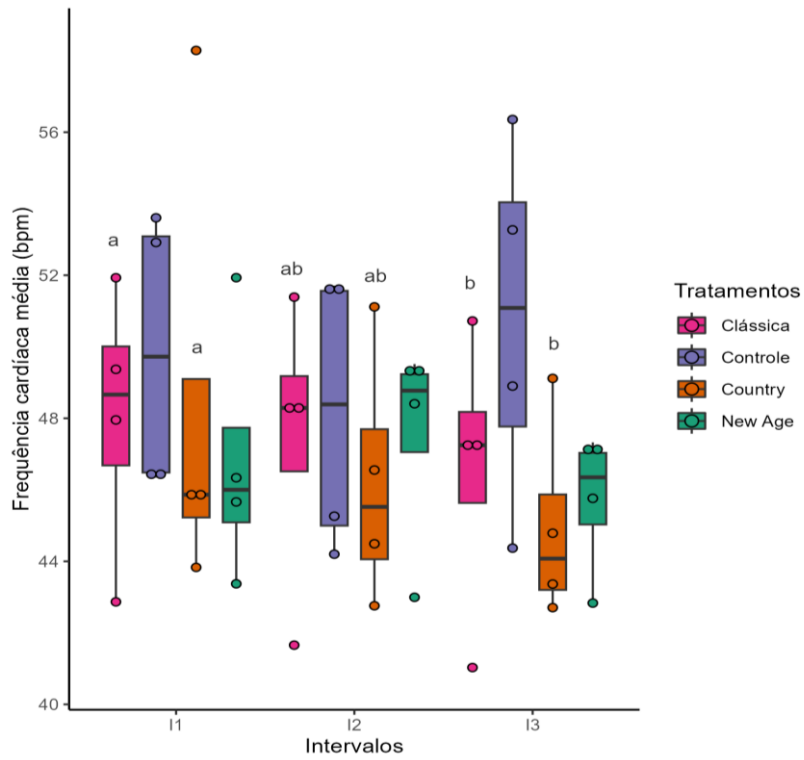
3.1 Experimento I

A frequência cardíaca média apresentou efeito ( $p<0,05$ ) ao longo dos intervalos (I1, I2, I3) para os tratamentos clássica e country, sugerindo que esta variável diminuiu do primeiro para o terceiro intervalo (Tabela 2; Figura 5). A variável LF/HF não diferiu ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos ou entre os intervalos.

**Tabela 2.** Média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil da frequência cardíaca média e razão LF/HF dos tratamentos controle, clássica, new age e country para fêmeas.

| Parâmetros                      | Tratamentos | Intervalos               |                           |                          |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                 |             | I1                       | I2                        | I3                       |
| Frequência cardíaca média (bpm) | Controle    | 49,72(6,61)              | 48,39(6,57)               | 51,08(6,27)              |
|                                 | Clássica    | 48,66(3,33) <sup>a</sup> | 48,29(2,66) <sup>ab</sup> | 47,25(2,54) <sup>b</sup> |
|                                 | New Age     | 46,00(2,65)              | 48,77(2,18)               | 46,35(2,00)              |
|                                 | Country     | 45,86(3,87) <sup>a</sup> | 45,52(3,64) <sup>ab</sup> | 44,08(2,67) <sup>b</sup> |
| LF/HF                           | Controle    | 2,98±0,97                | 2,49±0,85                 | 3,09±1,41                |
|                                 | Clássica    | 2,27±0,90                | 2,62±0,59                 | 2,57±1,30                |
|                                 | New Age     | 2,31±0,46                | 1,99±1,21                 | 2,59±1,11                |
|                                 | Country     | 2,65±1,12                | 2,69±0,77                 | 2,67±0,85                |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos time-points para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ .



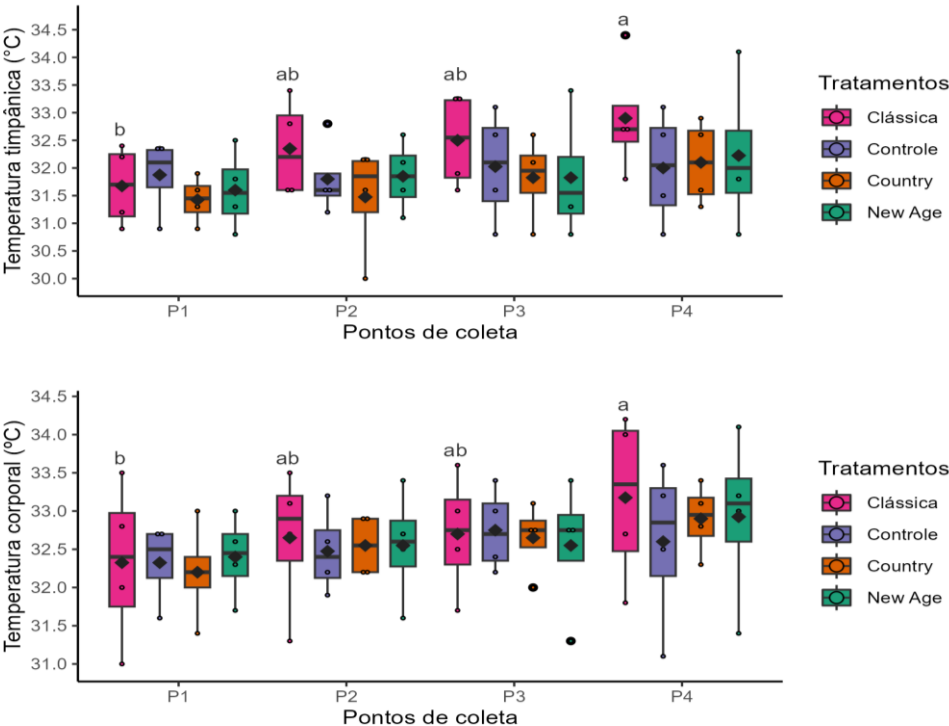
**Figura 5.** Gráfico de caixas da frequência cardíaca média (bpm) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo de três intervalos [Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos intervalos para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b$ ; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]

As temperaturas timpânica e corporal apresentaram efeito ( $p<0,05$ ) ao longo dos pontos de coleta (P1, P2, P3 e P4) para o tratamento clássica, sugerindo que esta variável aumentou do primeiro para o quarto ponto de coleta (Tabela 3; Figura 6). A frequência respiratória e temperatura ocular não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos ou entre os pontos de coleta.

**Tabela 3.** Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle, clássica, new age e country das fêmeas ao longo de quatro pontos de coleta.

| Parâmetros              | Tratamentos | Pontos de coleta       |                         |                         |                        |
|-------------------------|-------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
|                         |             | P1                     | P2                      | P3                      | P4                     |
| Frequência respiratória | Controle    | 25,0±5,03              | 25,0±8,25               | 23,0±8,25               | 24,0±7,30              |
|                         | Clássica    | 24,0±5,66              | 21,0±5,03               | 23,0±6,00               | 19,0±5,03              |
|                         | New Age     | 24,0±4,62              | 26,0±5,66               | 24,0±5,66               | 22,0±2,31              |
|                         | Country     | 22,0±5,03              | 22,0±5,16               | 28,0±10,80              | 25,0±5,03              |
| Temperatura timpânica   | Controle    | 31,9±0,68              | 31,8±0,69               | 32,0±1,03               | 32,0±1,04              |
|                         | Clássica    | 31,7±0,74 <sup>b</sup> | 32,4±0,90 <sup>ab</sup> | 32,5±0,88 <sup>ab</sup> | 32,9±1,09 <sup>a</sup> |
|                         | New Age     | 31,6±0,73              | 31,8±0,64               | 31,8±1,13               | 32,2±1,38              |
|                         | Country     | 31,4±0,43              | 31,5±1,02               | 31,8±0,76               | 32,1±0,77              |
| Temperatura ocular      | Controle    | 30,4±0,55              | 29,5±0,89               | 29,4±0,86               | 29,9±0,84              |
|                         | Clássica    | 30,2±0,77              | 29,8±0,55               | 29,5±1,01               | 30,4±1,35              |
|                         | New Age     | 30,1±1,05              | 30,0±0,66               | 29,9±0,39               | 29,9±1,33              |
|                         | Country     | 29,7±0,82              | 29,8±0,39               | 30,2±1,32               | 29,6±0,40              |
| Temperatura corporal    | Controle    | 32,3±0,52              | 32,5±0,56               | 32,8±0,55               | 32,6±1,10              |
|                         | Clássica    | 32,3±1,08 <sup>b</sup> | 32,6±0,96 <sup>ab</sup> | 32,7±0,80 <sup>ab</sup> | 33,2±1,13 <sup>a</sup> |
|                         | New Age     | 32,4±0,55              | 32,6±0,74               | 32,6±0,89               | 32,9±1,12              |
|                         | Country     | 32,2±0,65              | 32,6±0,40               | 32,6±0,46               | 32,9±0,47              |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos pontos de coleta para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b>c>d$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo ponto de coleta ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ .



**Figura 6.** Gráficos de caixas das temperaturas timpânica (°C) e corporal (°C) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta [Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos intervalos para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]

A frequência dos descritores de ação facial dilatação de narina (AD38) e orelhas para trás (EAD104) no intervalo dois (I2) foram maiores ( $p<0,05$ ) para o tratamento new age, e menor para clássica, e os demais não diferiram (Tabela 4; Figura 7 e 8, respectivamente). No intervalo três (I3), a frequência do descritor de ação facial EAD104 foi maior ( $p<0,05$ ) para o tratamento new age e menor para country, e os demais não diferiram.

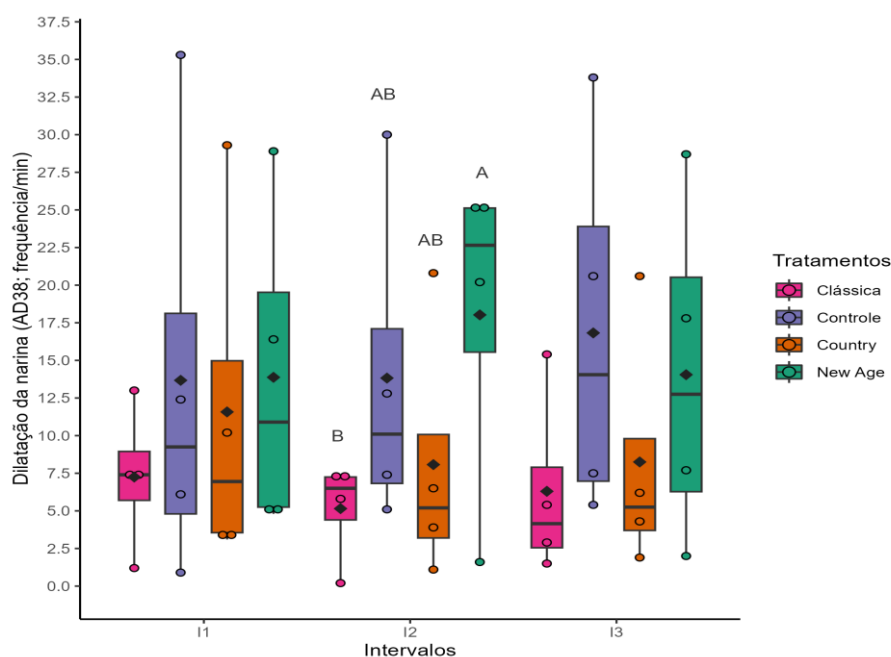
A frequência da unidade de ação facial meia piscada (AU47) no intervalo três (I3) foi maior ( $p<0,05$ ) para o tratamento controle, e menor para o tratamento clássica. Os tratamentos new age e country não diferiram entre si (Figura 9).

**Tabela 4.** Média e desvio-padrão, ou mediana e amplitude interquartil da frequência por minuto de parâmetros faciais dos tratamentos controle, clássica, new age e country das fêmeas ao longo de três intervalos.

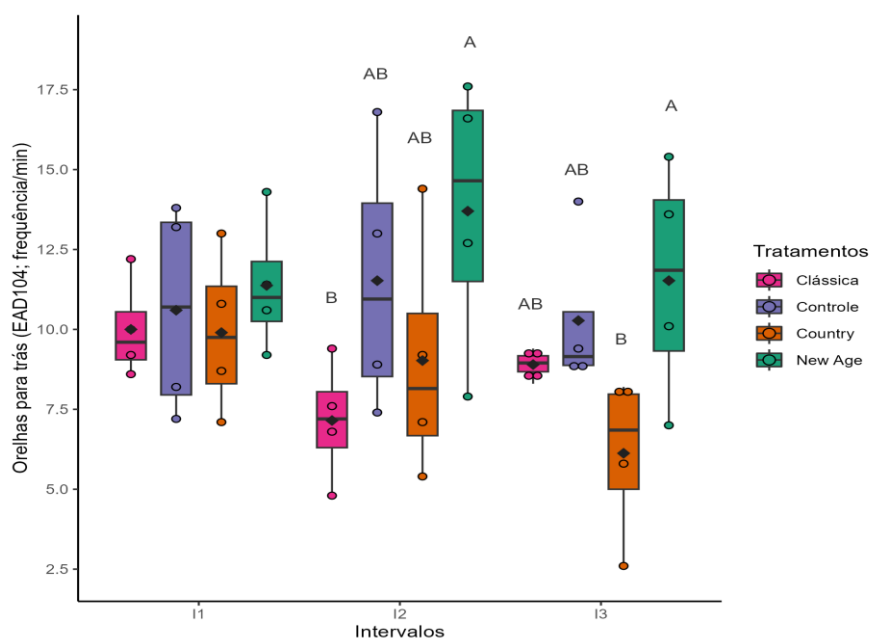
| Parâmetros                                      | Tratamentos | Intervalos  |                           |             |
|-------------------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------|-------------|
|                                                 |             | I1          | I2                        | I3          |
| Levantador de<br>sobrancelha interna<br>(AU101) | Controle    | 2,20±1,09   | 1,80±2,16                 | 2,12±1,79   |
|                                                 | Clássica    | 1,40±1,18   | 1,35±1,11                 | 1,23±0,97   |
|                                                 | New Age     | 2,58±2,55   | 3,10±3,15                 | 2,70±2,25   |
|                                                 | Country     | 1,30±0,74   | 1,08±0,854                | 1,10±0,62   |
| Dilatação da narina<br>(AD38)                   | Controle    | 13,70±15,20 | 13,80±11,30 <sup>AB</sup> | 16,80±13,20 |
|                                                 | Clássica    | 7,25±4,82   | 5,15±3,38 <sup>B</sup>    | 6,30±6,28   |
|                                                 | New Age     | 13,90±11,30 | 18,00±11,20 <sup>A</sup>  | 14,00±11,80 |
|                                                 | Country     | 11,60±12,20 | 8,07±8,77 <sup>AB</sup>   | 8,25±8,42   |

|                                      |          |            |                                |                                |
|--------------------------------------|----------|------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Orelhas para frente<br>(EAD101)      | Controle | 10,40±3,42 | 12,70±5,60                     | 8,25±1,32                      |
|                                      | Clássica | 9,80±4,87  | 6,90±3,97                      | 7,30±1,42                      |
|                                      | New Age  | 11,40±2,28 | 12,10±3,37                     | 8,85±2,52                      |
|                                      | Country  | 9,40±5,35  | 7,25±1,22                      | 5,32±3,23                      |
| Orelhas para trás<br>(EAD104)        | Controle | 10,60±3,38 | <b>11,50±4,24<sup>AB</sup></b> | <b>10,30±2,50<sup>AB</sup></b> |
|                                      | Clássica | 10,00±1,57 | <b>7,15±1,91<sup>B</sup></b>   | <b>8,90±0,47<sup>AB</sup></b>  |
|                                      | New Age  | 11,40±2,15 | <b>13,70±4,41<sup>A</sup></b>  | <b>11,50±3,73<sup>A</sup></b>  |
|                                      | Country  | 9,90±2,56  | <b>9,02±3,91<sup>AB</sup></b>  | <b>6,12±2,58<sup>B</sup></b>   |
| Mastigação (AD81)                    | Controle | 1,23±0,65  | 0,72±0,51                      | 0,50±0,48                      |
|                                      | Clássica | 0,40±0,28  | 0,50±0,11                      | 0,15±0,10                      |
|                                      | New Age  | 0,65±0,66  | 1,12±0,15                      | 0,90±0,42                      |
|                                      | Country  | 0,50±0,26  | 0,97±0,98                      | 0,97±1,16                      |
| Piscada (AU145)                      | Controle | 5,62±2,93  | 3,88±1,91                      | 5,85±1,42                      |
|                                      | Clássica | 5,68±2,39  | 5,85±2,59                      | 5,98±2,52                      |
|                                      | New Age  | 3,85±1,88  | 5,38±1,88                      | 6,28±2,62                      |
|                                      | Country  | 6,92±3,51  | 4,50±2,53                      | 5,28±2,21                      |
| Meia piscada (AU47)                  | Controle | 13,20±4,30 | 14,90±5,16                     | <b>16,50±6,76<sup>A</sup></b>  |
|                                      | Clássica | 12,40±1,51 | 13,20±5,48                     | <b>10,50±3,93<sup>B</sup></b>  |
|                                      | New Age  | 13,20±5,40 | 13,60±4,05                     | <b>14,00±3,77<sup>AB</sup></b> |
|                                      | Country  | 13,20±1,65 | 12,60±1,31                     | <b>11,90±1,85<sup>AB</sup></b> |
| Aumento do branco dos<br>olhos (AD1) | Controle | 0,30(0,40) | 0,30(0,65)                     | 0,10(0,30)                     |
|                                      | Clássica | 0,00(0,10) | 0,20(0,10)                     | 0,10(0,20)                     |
|                                      | New Age  | 0,30(0,65) | 0,00(0,52)                     | 0,00(0,05)                     |
|                                      | Country  | 0,40(0,15) | 0,20(0,40)                     | 0,20(0,55)                     |
| Exposição da língua (AD19)           | Controle | 0,00(0,25) | 0,00 (0,05)                    | 0,10(0,30)                     |
|                                      | Clássica | 0,00(2,40) | 0,10(1,40)                     | 0,00(0,20)                     |
|                                      | New Age  | 0,30(0,60) | 0,00(1,62)                     | 0,10(0,60)                     |
|                                      | Country  | 0,10(2,28) | 0,00(1,12)                     | 0,10(0,77)                     |
| Fechamento dos olhos<br>(AU143)      | Controle | 0,20(0,20) | 0,10(0,42)                     | 0,20(0,50)                     |
|                                      | Clássica | 0,00(0,00) | 0,00(0,60)                     | 0,00(1,5)                      |
|                                      | New Age  | 0,10(0,30) | 0,00(0,00)                     | 0,00(0,00)                     |
|                                      | Country  | 0,00(0,00) | 0,00(0,10)                     | 0,20(0,15)                     |

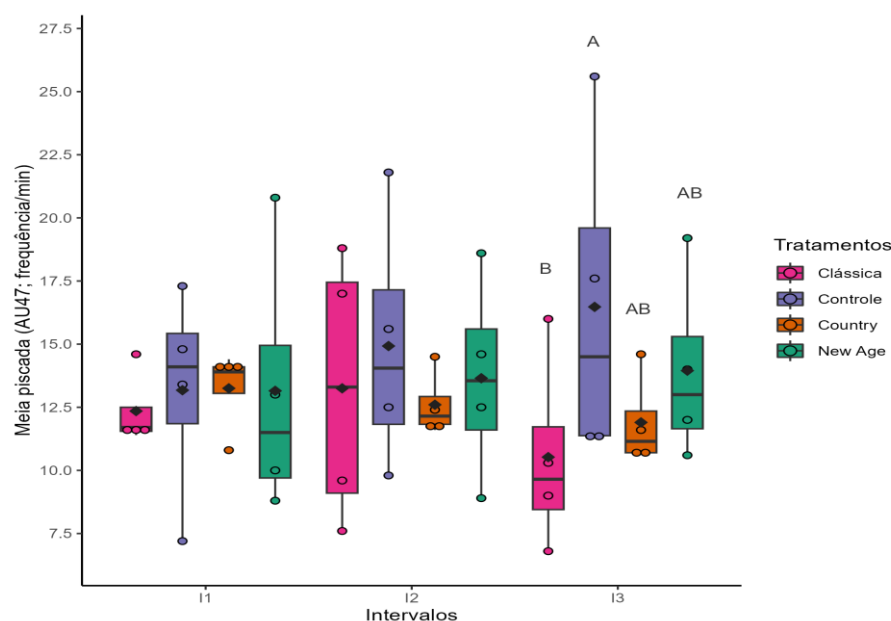
Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos intervalos para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ .



**Figura 7.** Gráfico de caixas do descritor de ação facial dilatação da narina (AD38) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos [Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p < 0,05$ ), sendo que  $A > B$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]



**Figura 8.** Gráfico de caixas do descritor de ação facial orelhas para trás (EAD104) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos [Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p < 0,05$ ), sendo que  $A > B$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]



**Figura 9.** Gráfico de caixas da unidade de ação facial meia piscada (AU47) das fêmeas nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos [Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p < 0,05$ ), sendo que  $A > B$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]

A análise paralela de Horn indicou a retenção do primeiro e segundo PC de um total de 5 PC gerados pela análise de componentes principais (PCA), portanto apenas esses foram analisados. O valor de carga da PCA indica o nível de associação entre a variável e um determinado PC, sendo que o valor de carga mais distante de zero indica maior nível de associação positiva (1,00) ou negativa (-1,00). Desta forma, o conjunto de variáveis associadas positivamente com um PC apresentam dinâmica semelhante entre si, sendo que, todas aumentam ou diminuem concomitantemente.

As associações foram determinadas por um ponto de corte do valor de carga de 0,40 positivo ou negativo. O PC1 explicou sozinho a maior parte (31,4%) da variação total dos dados, sendo que, orelhas para frente (EAD101), orelhas para trás (EAD104), meia piscada (AU47), aumento do branco dos olhos (AD1), dilatação da narina (AD38) e mastigação (AD81) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC1 (Tabela 5). Desta forma, a diminuição ou aumento destas expressões faciais ocorreu concomitantemente considerando os tratamentos. Dilatação da narina (AD38) mostrou o valor de carga mais distante de zero no PC1, que pode ser interpretado como a expressão facial com maior variação (importância) no PC1.

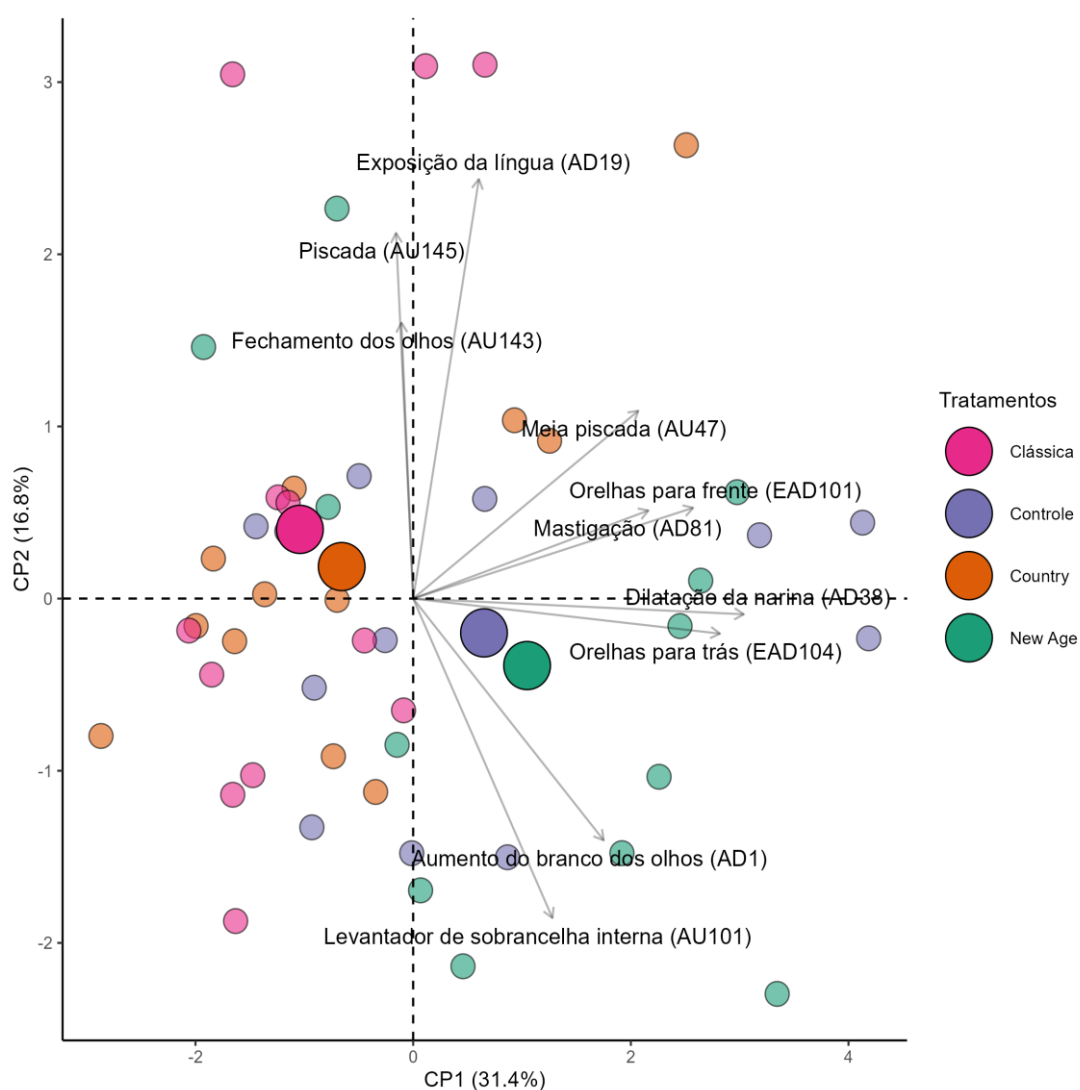
A piscada (AU145), exposição da língua (AD19) e fechamento dos olhos (AU143) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC2. Já o levantador de sobrancelha interna (AU101) foi a única expressão facial que demonstrou associação negativa com o PC2.

**Tabela 5.** Valores de carga, autovalores e variância da análise de componentes principais das fêmeas (PC = componente principal; em negrito estão os valores de carga maiores que 0,40 ou menores que -0,40 indicando associação da variável com o PC).

| Variáveis                                 | PC1          | PC2           |
|-------------------------------------------|--------------|---------------|
| Orelhas para frente (EAD101)              | <b>0,741</b> | 0,152         |
| Orelhas para trás (EAD104)                | <b>0,812</b> | -0,058        |
| Levantador da sobrancelha interna (AU101) | 0,369        | <b>-0,535</b> |
| Meia piscada (AU47)                       | <b>0,596</b> | 0,314         |
| Piscada (AU145)                           | -0,045       | <b>0,612</b>  |
| Fechamento dos olhos (AU143)              | -0,031       | <b>0,462</b>  |
| Aumento do branco dos olhos (AD1)         | <b>0,504</b> | -0,400        |
| Dilatação da narina (AD38)                | <b>0,875</b> | -0,026        |
| Mastigação (AD81)                         | <b>0,623</b> | 0,147         |
| Exposição da língua (AD19)                | 0,174        | <b>0,702</b>  |
| Autovalores                               | 3,144        | 1,678         |
| Variância                                 | 31,441       | 16,784        |
| Variância cumulativa                      | 31,441       | 48,225        |

Pode ser visualizado na figura 10 a separação das avaliações das éguas nos tratamentos clássica, controle, country e new age com cores diferentes. Uma das informações dessa figura é o centróide (círculo maior) que indica o centro de massa dado pelo polígono (forma geométrica) formado com a interpolação das avaliações (círculos menores) de uma mesma cor. Por um julgamento visual, os centróides dos tratamentos clássica e country se encontram separados dos centróides do new age e controle, indicando que as expressões faciais conseguiram separar os tratamentos.

Ademais, os centróides dos tratamentos new age e controle estão localizados no quadrante direito inferior juntamente com os vetores de orelhas para trás (EAD104), levantador da sobrancelha interna (AU101), aumento do branco dos olhos (AD1) e dilatação da narina (AD38). Em contrapartida os centróides dos tratamentos clássica e country estão localizados no quadrante esquerdo superior juntamente com os vetores de fechamento dos olhos (AU143) e piscada (AU145); sugerindo maior ocorrência dessas expressões faciais nos respectivos tratamentos. Tais resultados exploram uma possível dinâmica múltipla das expressões faciais que foram capazes de distinguir tratamentos nas análises inferenciais prévias (modelagem).



**Figura 10.** Biplot bidimensional da análise de componentes principais das fêmeas com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento (Círculos menores indicam cada avaliação e círculos maiores representam o centróide de cada tratamento; centróide indica o centro de massa dado pelo polígono formado com a interpolação dos círculos menores de uma mesma cor; as setas indicam os vetores de cada uma das expressões faciais)

3.2 Experimento II

As variáveis frequência cardíaca média (bpm) e LF/HF não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos ou entre os intervalos ao longo do tempo (Tabela 6).

**Tabela 6.** Média e desvio-padrão ou mediana e amplitude interquartil da frequência cardíaca média e razão LF/HF dos tratamentos controle, clássica, new age e country para os machos.

| Parâmetros                      | Tratamentos | Intervalos  |              |             |
|---------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
|                                 |             | I1          | I2           | I3          |
| Frequência cardíaca média (bpm) | Controle    | 38,05(8,84) | 37,87(7,56)  | 37,13(5,77) |
|                                 | Clássica    | 38,81(3,21) | 40,42(6,17)  | 42,04(7,06) |
|                                 | New Age     | 41,07(4,24) | 36,58(11,40) | 43,15(4,67) |
|                                 | Country     | 39,93(1,78) | 39,64(2,70)  | 41,03(3,21) |
| LF/HF                           | Controle    | 1,14±1,56   | 1,66±0,43    | 2,30±0,59   |
|                                 | Clássica    | 1,06±0,95   | 1,23±1,01    | 1,57±9,59   |
|                                 | New Age     | 1,22± 0,93  | 1,15±0,74    | 2,98±6,07   |
|                                 | Country     | 1,56±1,27   | 1,17±0,74    | 2,74±1,06   |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos time-points para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ .

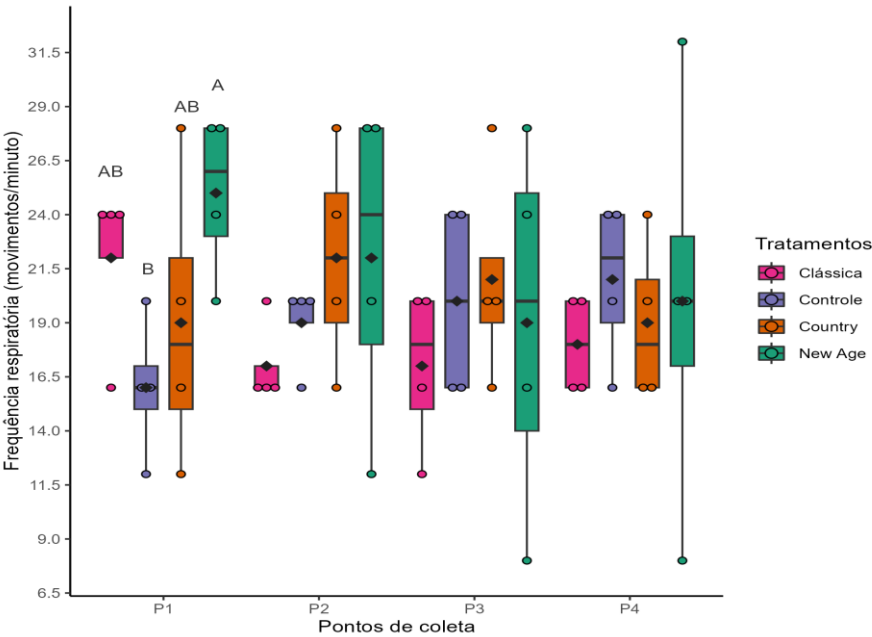
A frequência respiratória no primeiro ponto de coleta (P1) foi maior ( $p<0,05$ ) para o tratamento new age e menor para controle, e os demais não diferiram. Houve efeito ( $p<0,05$ ) para temperatura ocular ao longo dos pontos de coleta (P1, P2, P3 e P4) nos tratamentos controle e country, sugerindo que esta variável aumentou alcançando seu ápice em P3 (Tabela 7; Figura 11 e 12).

As temperaturas timpânica e corporal não diferiram ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos, ou entre os pontos de coleta.

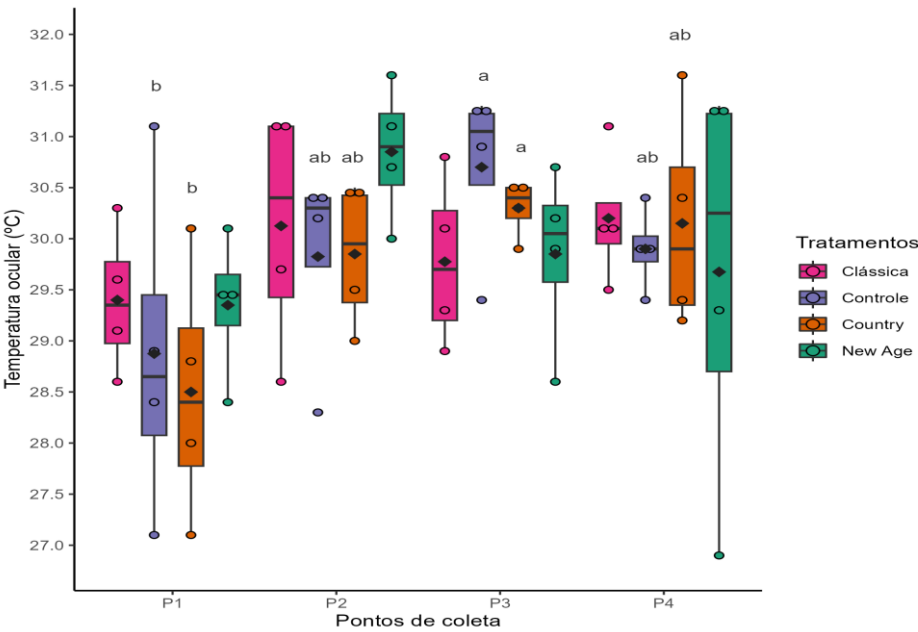
**Tabela 7.** Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle, clássica, new age e country dos machos ao longo de quatro pontos de coleta.

| Parâmetros              | Tratamentos | Pontos de coleta        |                         |                        |                         |
|-------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
|                         |             | P1                      | P2                      | P3                     | P4                      |
| Frequência respiratória | Controle    | 16,0±3,27 <sup>B</sup>  | 19,0±2,00               | 20,0±4,62              | 21,0±3,83               |
|                         | Clássica    | 22,0±4,00 <sup>AB</sup> | 17,0±2,00               | 17,0±3,83              | 18,0±2,31               |
|                         | New Age     | 25,0±3,83 <sup>A</sup>  | 22,0±7,66               | 19,0±8,87              | 20,0±9,80               |
|                         | Country     | 19,0±6,83 <sup>AB</sup> | 22,0±5,16               | 21,0±5,03              | 19,0±3,83               |
| Temperatura timpânica   | Controle    | 30,3±2,49               | 30,8±2,20               | 30,4±1,85              | 30,7±2,69               |
|                         | Clássica    | 30,5±1,52               | 31,5±1,02               | 30,8±2,00              | 31,0±1,09               |
|                         | New Age     | 30,4±3,69               | 30,8±2,38               | 30,8±1,73              | 31,4±1,43               |
|                         | Country     | 31,0±2,93               | 31,0±2,13               | 31,2±2,14              | 31,2±1,84               |
| Temperatura ocular      | Controle    | 28,9±1,67 <sup>b</sup>  | 29,8±1,02 <sup>ab</sup> | 30,7±0,88 <sup>a</sup> | 29,9±0,41 <sup>ab</sup> |
|                         | Clássica    | 29,4±0,73               | 30,1±1,21               | 29,8±0,85              | 30,2±0,66               |
|                         | New Age     | 29,4±0,70               | 30,8±0,68               | 29,8±0,90              | 29,7±2,07               |
|                         | Country     | 28,5±1,27 <sup>b</sup>  | 29,8±0,72 <sup>ab</sup> | 30,3±0,28 <sup>a</sup> | 30,2±1,10 <sup>ab</sup> |
| Temperatura corporal    | Controle    | 31,7±1,85               | 32,0±1,24               | 31,9±1,36              | 32,1±1,90               |
|                         | Clássica    | 31,5±1,33               | 31,9±1,14               | 31,6±1,08              | 31,8±1,06               |
|                         | New Age     | 31,2±2,08               | 31,7±1,77               | 31,4±1,68              | 31,9±1,65               |
|                         | Country     | 32,0±2,47               | 31,7±1,89               | 31,8±1,92              | 31,9±1,99               |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos pontos de coleta para um mesmo tratamento ( $p<0,05$ ), sendo que  $a>b>c>d$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo ponto de coleta ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ .



**Figura 11.** Gráfico de caixas da frequência respiratória (movimentos/min) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta [Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo ponto de coleta ( $p<0,05$ ), sendo que  $A>B$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]



**Figura 12.** Gráfico de caixas da temperatura ocular (°C) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos pontos de coleta [Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os pontos de coleta ( $p < 0,05$ ), sendo que  $a > b$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]

A frequência do descritor de ação orelhas para frente (EAD101) no intervalo três (I3) foi maior ( $p < 0,05$ ) para o tratamento country e menor para o tratamento new age, e os demais não diferiram (Tabela 8; Figura 13).

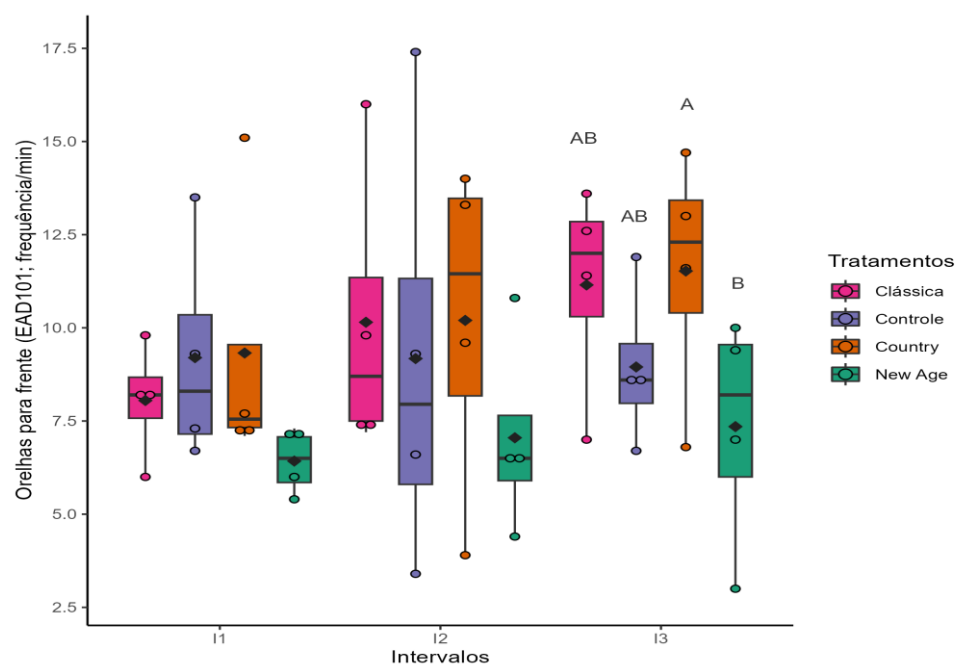
A unidade de ação fechamento dos olhos (AU143) não foi selecionada por apresentar baixa frequência.

**Tabela 8.** Média e desvio-padrão ou mediana e amplitude interquartil da frequência por minuto de parâmetros faciais dos machos nos tratamentos controle, clássica, new age e country ao longo de três intervalos.

| Parâmetros                                | Tratamentos | Intervalos |            |                          |
|-------------------------------------------|-------------|------------|------------|--------------------------|
|                                           |             | I1         | I2         | I3                       |
| Levantador de sobrancelha interna (AU101) | Controle    | 1,90±0,92  | 1,88±1,23  | 2,30±1,91                |
|                                           | Clássica    | 1,27±0,61  | 2,17±0,75  | 2,68±1,97                |
|                                           | New Age     | 1,98±1,03  | 1,98±0,92  | 2,05±1,68                |
|                                           | Country     | 1,65±1,23  | 0,80±0,59  | 2,10±1,41                |
| Dilatação da narina(AD38)                 | Controle    | 6,55±2,79  | 7,18±2,56  | 11,80±7,20               |
|                                           | Clássica    | 9,00±8,38  | 7,92±6,43  | 7,95±6,28                |
|                                           | New Age     | 8,12±8,75  | 7,85±8,87  | 9,70±7,26                |
|                                           | Country     | 9,05±5,64  | 7,15±5,08  | 8,60±3,52                |
| Orelhas para frente (EAD101)              | Controle    | 9,20±3,07  | 9,17±5,99  | 8,95±2,17 <sup>AB</sup>  |
|                                           | Clássica    | 8,05±1,56  | 10,20±4,06 | 11,20±2,91 <sup>AB</sup> |
|                                           | New Age     | 6,42±0,88  | 7,05±2,69  | 7,35±3,18 <sup>B</sup>   |
|                                           | Country     | 9,32±3,86  | 10,20±4,62 | 11,50±3,40 <sup>A</sup>  |

|                                      |          |            |             |            |
|--------------------------------------|----------|------------|-------------|------------|
| Orelhas para trás<br>(EAD104)        | Controle | 10,20±4,07 | 10,90±5,31  | 9,85±1,94  |
|                                      | Clássica | 10,70±1,11 | 11,20±1,38  | 11,80±1,24 |
|                                      | New Age  | 7,82±2,38  | 8,35±1,98   | 8,10±0,66  |
|                                      | Country  | 10,7±4,92  | 11,80±7,92  | 10,80±5,06 |
| Mastigação (AD81)                    | Controle | 0,77±0,79  | 1,10±0,70   | 0,87±0,90  |
|                                      | Clássica | 0,90±0,62  | 0,75±0,34   | 0,35±0,19  |
|                                      | New Age  | 1,12±0,73  | 0,75±0,47   | 0,55±0,19  |
|                                      | Country  | 0,85±0,66  | 1,12±0,73   | 0,60±0,37  |
| Piscada (AU145)                      | Controle | 5,65±1,84  | 6,98±3,13   | 6,82±1,50  |
|                                      | Clássica | 7,10±3,11  | 6,32±2,85   | 6,95±3,81  |
|                                      | New Age  | 5,78±0,56  | 6,70±2,37   | 6,90±3,40  |
|                                      | Country  | 7,20±4,56  | 6,15±4,29   | 5,60±2,47  |
| Meia piscada (AU47)                  | Controle | 14,90±3,38 | 13,50±4,57  | 13,40±2,07 |
|                                      | Clássica | 11,80±4,05 | 13,40±6,38  | 11,30±2,90 |
|                                      | New Age  | 14,60±3,33 | 15,60±2,29  | 14,30±5,02 |
|                                      | Country  | 13,20±3,76 | 13,40±3,36  | 15,00±2,06 |
| Aumento do branco<br>dos olhos (AD1) | Controle | 0,40(0,20) | 0,20(0,15)  | 0,30(0,45) |
|                                      | Clássica | 0,50(0,80) | 0,00(0,57)  | 0,00(0,15) |
|                                      | New Age  | 0,50(0,45) | 0,30(0,25)  | 0,20(0,55) |
|                                      | Country  | 0,30(0,30) | 0,30(0,65)  | 0,20(0,10) |
| Exposição da língua (AD19)           | Controle | 0,75(1,27) | 0,20 (0,27) | 0,20(0,47) |
|                                      | Clássica | 0,30(1,70) | 0,00(0,20)  | 0,10(0,25) |
|                                      | New Age  | 0,80(2,25) | 0,60(1,05)  | 0,50(1,15) |
|                                      | Country  | 0,40(1,30) | 0,30(0,25)  | 0,20(0,40) |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos in-tervalos para um mesmo tratamento (p<0,05), sendo que a>b; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo (p<0,05), sendo que A>B.



**Figura 13.** Gráfico de caixas do descritor de ação facial orelhas para frente (EAD101) dos machos nos tratamentos clássica, controle, country e new age ao longo dos intervalos [Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo ( $p < 0,05$ ), sendo que  $A > B$ ; o losango preto indica a média; cada círculo colorido com as cores dos respectivos tratamentos representa um animal]

A análise paralela de Horn indicou a retenção do primeiro e segundo PC de um total de 5 PC gerados pela análise de componentes principais (PCA), portanto apenas esses foram analisados.

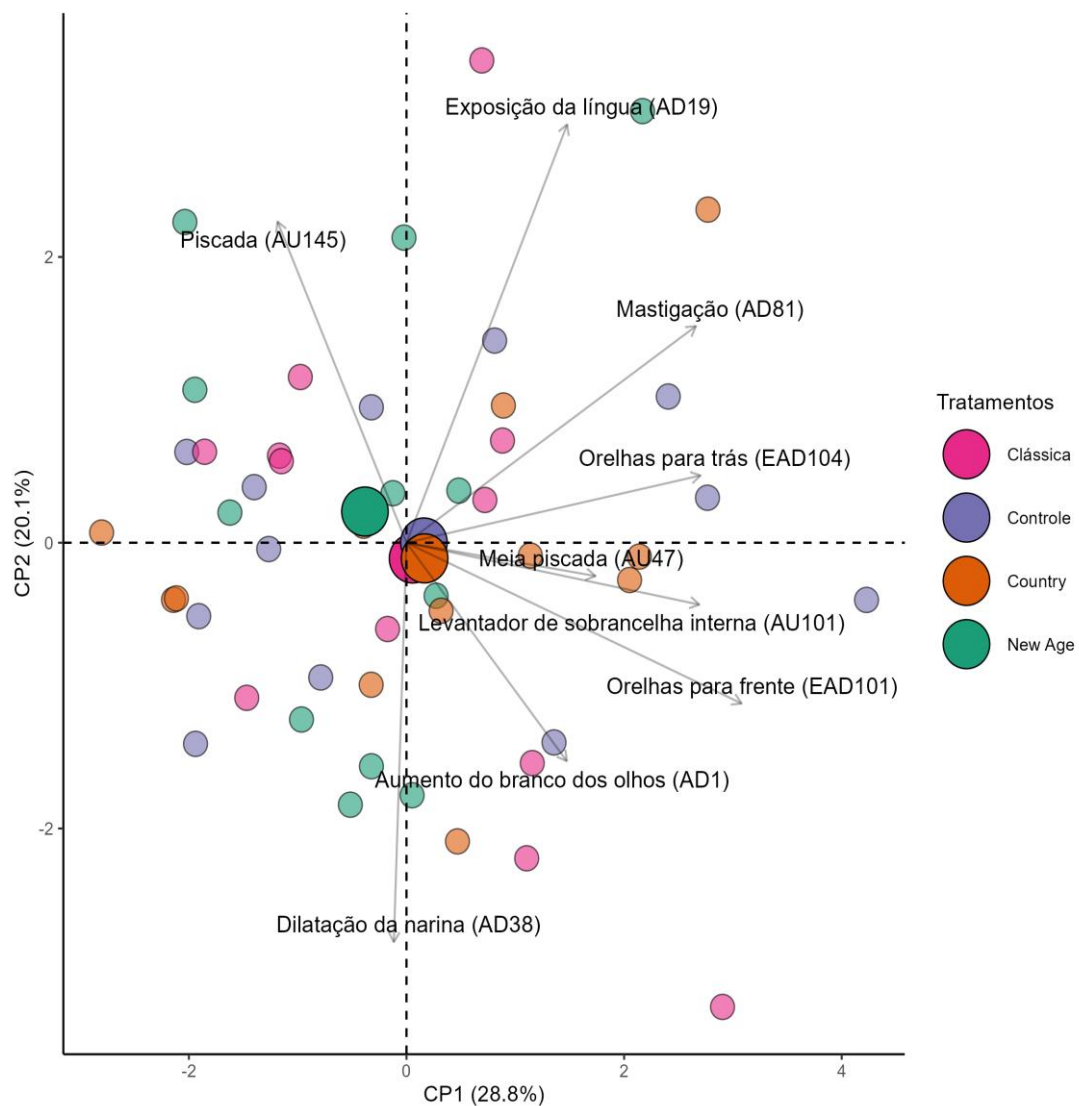
O PC1 explicou sozinho a maior parte (28,8%) da variação total dos dados, sendo que orelhas para frente (EAD101), orelhas para trás (EAD104), levantador da sobrancelha interna (AU101), meia piscada (AU47) e mastigação (AD81) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC1 (Tabela 9). Desta forma, a diminuição ou aumento destas expressões faciais ocorreu concomitantemente considerando os tratamentos. Orelhas para frente (EAD101) mostrou o valor de carga mais distante de zero no PC1, que pode ser interpretado como a expressão facial com maior variação (importância) no PC1. A piscada (AU145) e exposição da língua (AD19) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC2.

**Tabela 9.** Valores de carga, autovalores e variância da análise de componentes principais dos machos (PC = componente principal; em negrito estão os valores de carga maiores que 0,40 ou menores que -0,40 indicando associação da variável com o PC).

| Variáveis                                 | PC1          | PC2          |
|-------------------------------------------|--------------|--------------|
| Orelhas para frente (EAD101)              | <b>0,785</b> | -0,287       |
| Orelhas para trás (EAD104)                | <b>0,689</b> | -0,120       |
| Levantador da sobrancelha interna (AU101) | <b>0,686</b> | -0,110       |
| Meia piscada (AU47)                       | <b>0,443</b> | -0,059       |
| Piscada (AU145)                           | -0,302       | <b>0,573</b> |
| Aumento do branco dos olhos (AD1)         | 0,376        | -0,390       |
| Dilatação da narina (AD38)                | -0,030       | -0,386       |
| Mastigação (AD81)                         | <b>0,678</b> | 0,386        |
| Exposição da língua (AD19)                | 0,377        | <b>0,746</b> |
| Autovalores                               | 2,595        | 1,808        |
| Variância                                 | 28,834       | 20,087       |
| Variância cumulativa                      | 28,834       | 48,921       |

A figura 14 separa as avaliações dos cavalos nos tratamentos clássica, controle, country e new age com cores diferentes. Por um julgamento visual, os centróides dos tratamentos clássica, country e controle encontram-se separados do centróide do new age, indicando que as expressões faciais conseguiram separar os tratamentos.

Ademais, os centróides dos tratamentos clássica, country e controle estão localizados no quadrante direito inferior sobrepostos e próximos ao centro dos quadrantes juntamente com os vetores levantador da sobrancelha interna (AU101), aumento do branco dos olhos (AD1), orelhas para frente (EAD101) e meia piscada (AU47), em contrapartida o centróide do tratamento new age está localizado no quadrante esquerdo superior juntamente com o vetor de piscada (AU145); sugerindo uma maior ocorrência dessas expressões faciais nos respectivos tratamentos. Tais resultados exploram uma possível dinâmica múltipla das expressões faciais que foram capazes de distinguir tratamentos nas análises inferenciais prévias (modelagem).



**Figura 14.** Biplot bidimensional da análise de componentes principais dos machos com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento (Círculos menores indicam cada avaliação e círculos maiores representam o centróide de cada tratamento; centróide indica o centro de massa dado pelo polígono formado com a interpolação dos círculos menores de uma mesma cor; as setas indicam os vetores de cada uma das expressões faciais)

#### 4. Discussão

A medição da frequência cardíaca (FC) e variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido amplamente utilizada para investigar o funcionamento do sistema nervoso autônomo (SNA), especialmente o equilíbrio entre a atividade vagal e simpática, relacionado às estratégias de enfrentamento em cavalos. O ramo vagal do SNA está associado à responsividade adaptativa ao ambiente [35] em que, indivíduos com maior atividade parassimpática são mais exploradores e adaptativos às demandas ambientais.

O componente de alta frequência (High Frequency – HF) corresponde a atuação do nervo vago sobre o coração, indicando a atividade do ramo vagal. Em contrapartida, durante respostas autonômicas e comportamentais ao estresse, esta atividade é suprimida, tendo prevalência da atividade simpática [36]. Embora o parâmetro de baixa frequência (Low Frequency – LF) reflita a atividade de ambos os ramos do SNA, é considerada a predominância do simpático [37].

Em humanos, a razão  $LF/HF < 1,00$  indica elevado nível de relaxamento do corpo, caracterizando atividade parassimpática sobre o coração [38], fato relatado também em estudo realizado por [39] que avaliando equinos idosos constataram um maior tônus parassimpático com valores  $< 1,00$ . Por outro lado, sob domínio da atividade simpática, equivalente ao estresse, têm-se razão  $LF/HF > 1,00$  em humanos [38] e  $> 1,50$  em equinos atletas [40].

Observa-se que no experimento I a razão  $LF/HF$  das fêmeas apresentou valores  $> 1,50$  ( $\geq 1,99$  e  $\leq 3,09$ ). Enquanto no experimento II com os machos foi  $> 1,00$  ( $\geq 1,06$  e  $\leq 2,98$ ). Sendo possível constatar que durante ambos os experimentos os animais encontravam-se em condição de estresse devido ao manejo em tronco de contenção, em que os machos estiveram menos estressados que as fêmeas. Em estudo, [41] observaram que o sexo pode desempenhar papel importante em que as éguas também apresentaram uma reação ao estresse mais pronunciada, com valores mais elevados em comparação com os machos castrados.

Pesquisando confiabilidade das medidas de VFC de equinos, [5] verificou que dentro de uma baía  $4m^2$  com a possibilidade de movimentos livres, porém limitado e/ou autocontrolado, havia um controle parassimpático, e quando restritos em tronco de contenção houve ação do sistema nervoso simpático, ou seja, restringir o movimento em um tronco desencadeia estresse ao animal.

Segundo [18, 41], a FC em repouso para equinos adultos, obtida em ambientes com temperaturas elevadas ( $22^{\circ}C$  e  $36^{\circ}C$ ), pode variar de 28 a 40 batimentos por minuto. No experimento I, a frequência cardíaca das fêmeas esteve acima da faixa de normalidade para a espécie equina apresentando valores de 44 a 51 bpm. No entanto, as músicas clássica e country foram capazes de promover redução nos batimentos ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ) sugerindo efeito tranquilizante.

Neste sentido, em estudo realizado com mulheres, [42] apontaram que o sistema nervoso simpático é suprimido e o parassimpático é aumentado durante a exposição à música clássica ‘Pachelbel’s Canon’ da Orquestra de Jean-François Paillard deduzindo que, pode ser esperado um efeito relaxante dado pelos parâmetros fisiológicos.

Contrariamente do que é relatado na literatura em que o gênero country promove agitação nas diferentes espécies devido ao seu ritmo [43], no presente trabalho houve um efeito de relaxamento. Por sua vez, [44] realizaram estudo com humanos, e constataram que durante a estimulação auditiva com gênero musical de heavy metal que é marcado por um ritmo agitado, também houve uma redução da FC, indicando diminuição aguda da regulação autonômica cardíaca.

Os gêneros musicais como country e clássica, afetam positivamente o bem-estar de bovinos, resultando em frequências cardíacas mais baixas [45]. Já em equinos, os efeitos da música foram estudados por [46] em situações cotidianas de manejo, no qual a música clássica reduziu a intensidade das respostas ao estresse dos animais submetidos a transporte de curta duração, ou ao tratamento de ferrador, sugerindo que a música pode ter implicações práticas.

Durante a exposição à música country de Hank Williams Jr., [23] avaliaram pôneis machos isolados socialmente dos coespecíficos, e relataram maior desprendimento de tempo com alimentação, além de redução na ocorrência de relinchos quando comparado ao período sem música. Porém, não se observou o mesmo comportamento fisiológico com os machos no experimento II, em que os valores alcançados de frequência cardíaca variaram de 36 a 43 bpm, próximo a faixa de valor basal para espécie, não diferindo entre os tratamentos ( $p>0,05$ ).

O nível basal da frequência respiratória de equinos, obtida em ambientes com temperaturas elevadas, está entre 10 a 20 movimentos por minuto [18, 41]. No experimento I e II, os resultados obtidos estavam próximos da faixa estabelecida como basal da espécie, com valores entre 19 a 28 e 16 a 25 movimentos por minuto, respectivamente. Destaca-se que os equinos da raça Pantaneira são animais adaptados e resistentes ao ambiente, em que [19, 20] relataram que o passeio turístico, e a lida do gado a cavalo na região do Pantanal não causou diferenças estatísticas nas frequências respiratória e cardíaca, antes e após o exercício.

No ponto inicial de coleta (P1), a frequência respiratória dos machos apresentou diferença ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos, com menor valor para o controle. Esse efeito pode estar relacionado ao “novo”, ou seja, ao fato de os animais terem sido expostos a estímulos auditivos desconhecidos pela primeira vez. Apesar do efeito não se manter ao longo do tempo, observou-se aumento nos movimentos respiratórios para o controle, e redução nos tratamentos com música.

A temperatura superficial é apoiada como um indiciador de bem-estar para o estresse crônico, onde respostas agudas têm sido associadas a padrões de vasoconstrição e vasodilatação [47]. Em pesquisa realizada com humanos saudáveis, [48] concluíram que o estresse provocou alterações na temperatura da pele que diminuíra distalmente, mas aumentou proximalmente, ou permanecem inalteradas, indicando que não há tradução direta deste paradigma de hipertermia induzida por estresse.

No experimento I, as fêmeas expostas à música clássica apresentaram elevação da temperatura corporal ao longo do tempo, pressupondo uma redução de estresse durante o manejo de contenção. Resposta encontrada também em estudo realizado com humanos por [42], na qual a temperatura da superfície corporal aumentou ao ouvir música clássica, com tendência de aumento de volume do fluxo sanguíneo, sugerindo potencial efeito calmante.

Houve aumento também da temperatura timpânica das fêmeas quando expostas à música clássica, pressupondo relaxamento. Fato condizente com estudo de [49] que indicaram que durante a reação de defesa/alarme em equinos pode ocorrer vasoconstrição e subsequente diminuição da temperatura auricular, e foi relatado com coelhos submetidos a um procedimento de imobilização durante 15 minutos, onde a temperatura do pavilhão da orelha interna diminuiu progressivamente decorrente do estresse [50].

Desse modo, o monitoramento das mudanças na temperatura ocular tem sido utilizado para avaliar a resposta de equinos a situações potencialmente estressoras [51, 52, 53, 54]. Uma diminuição, seguida de aumento da temperatura ao redor dos olhos (carúncula lacrimal) [10] está associado à resposta do sistema nervoso simpático [55] e parassimpático [53, 56], respectivamente. A temperatura ocular dos machos no experimento II foi influenciada ( $p<0,05$ ) pela música country e controle (sem música), que demonstraram elevação consistente ao longo do tempo marcado por um pico, e posterior diminuição.

Em estudo, [57] verificaram aumento na temperatura ocular de cavalos durante o manejo potencialmente aversivo de tosquia, em que a temperatura aumentou ao longo do procedimento atingindo o pico ao final de 10 minutos, e imediatamente após o término ocorreu a diminuição. Apesar disso, a temperatura ocular não atingiu os níveis basais, possivelmente devido às consequências metabólicas da resposta ao estresse.

Visando complementar os parâmetros fisiológicos foram analisadas expressões faciais selecionadas de acordo com resultados relevantes encontrados em trabalhos que avaliaram equinos submetidos a condições de estresse. No experimento I (fêmeas), as expres-

sões dilatação da narina (AD38), orelhas para trás (EAD104) e meia piscada (AU47) tiveram um efeito ( $p < 0,05$ ) de tratamento, assim como no experimento II (machos) para expressão orelhas para frente (EAD101).

O AD38 é um movimento facial que está associada à respiração profunda e ao cheirar, sendo que, a abertura da narina em diâmetro pode variar dependendo do estado fisiológico e psicológico do animal [58]. A dilatação da narina foi observada na postura de alerta em que o sistema cardiorrespiratório é ativado para preparar uma potencial fuga [59] sendo detectada em situação estressante [13]. As fêmeas apresentaram maior frequência desta expressão quando expostas à música new age, em que concomitantemente ocorreu maior frequência de EAD104.

Em pesquisa realizada por [60], constataram que EAD104 está presente em situações de estresse consequente do isolamento social. No experimento I, a movimentação de orelhas para trás, contrária a origem da música que tocava a frente do animal, supõe que durante a exposição ao tratamento new age as fêmeas demonstraram aversão a música. Esta expressão ocorreu concomitantemente com a maior frequência de AU47.

A meia piscada (AU47) é caracterizada pela redução na abertura ocular pelas pálpebras, sem fechamento completo dos olhos. É prevalente nos equinos em situação de dor [61], que pode ser considerada um agente estressor [62]. No experimento I, as fêmeas apresentaram maior frequência de AU47 durante o tratamento controle (sem música), localizada no biplot (figura 10) juntamente com as demais expressões relacionadas ao estresse, pressupondo que os animais estavam em estresse decorrente da contenção.

Em oposto, a piscada (AU145) e fechamento dos olhos (AU143) foram mais evidentes nas fêmeas durante exposição à música country e clássica, sendo as únicas expressões que no biplot se apresentaram em sentido contrário das demais, presumindo indicativo de relaxamento, no qual pode ter favorecido para que os animais permanecessem por mais tempo e/ou mais vezes com os olhos fechados, que é o requisito para codificação de ambas sendo diferenciadas apenas pela velocidade de ocorrência [11]. Analisando o biplot (figura 14) dos machos, também encontramos projeção semelhante, em que AU145 esteve em sentido oposto das demais, sendo mais evidente durante o tratamento new age. Estes resultados diferem do relatado por [63] que indicaram tais expressões como relacionadas à dor em equinos.

Ainda segundo [63], a movimentação de orelhas para frente (EAD101) ocorre nos equinos em condição dolorosa, como referido a dor é uma forma de estresse. No experimento II, os machos apresentaram maior frequência de EAD101 durante à música country e menor quando expostos à música new age. Este aumento pressupõe que a música country gerou um estado de alerta, em que os animais mantiveram as orelhas voltadas para frente a maior parte do tempo, em direção ao estímulo auditivo.

Os resultados obtidos indicam ainda que no experimento I, as menores frequências das expressões faciais das fêmeas, citadas anteriormente (AD38, EAD104, AU47), ocorreram durante a exposição aos tratamentos clássica e/ou country. Associado aos provenientes dos parâmetros fisiológicos em que temos redução da frequência cardíaca média durante às músicas clássica e country, e aumento das temperaturas timpânica e corporal durante a clássica, nota-se uma preferência das fêmeas pelas músicas de gênero clássica e country que foram capazes de promover a redução de estresse e proporcionar efeito de relaxamento durante o manejo em tronco de contenção. E aversividade à música new age que se mostrou equivalente a ausência de música.

Esta preferência das fêmeas pelos gêneros clássica e country, pode ser explicada por meio da frequência e tom presentes nas músicas, como relatado anteriormente as características das músicas utilizadas foram tons mais graves e frequência em torno de 15.000Hz. A melhor sensibilidade auditiva em equinos está entre 1.000 Hz e 16.000 Hz [6]. Estudo realizado por [64] para identificar preferências de éguas por certos tipos de voz, foi constatado que elas sentiam mais atração, e expressavam maior atenção em ganhanhões com tom de vocalização grave, demonstrando com isso uma condição de preferência biológica.

A música 'Horsing around' do gênero new age utilizada nos experimentos foi produzida especialmente para a espécie equina. O resultado divergente apresentado no experimento I com as fêmeas também foi relatado em outra espécie por [65], em que estudando o efeito da música na redução de estresse em cães, não encontrou resultado benéfico para a música produzida propriamente para cães.

Em contrapartida, no experimento II por meio das expressões faciais dos machos nota-se uma possível preferência pelo gênero musical new age, corroborando com estudo que avaliou a música de gênero new age para cavalos geriátricos, e comprovou um efeito positivo no relaxamento destes animais [7]. Já as músicas clássica e country sugerem efeito semelhante ao controle, em que observando conjuntamente a resposta fisiológica, temos o aumento da temperatura ocular ao longo dos tratamentos country e controle consequente ao estresse. Desta maneira, constata-se que os cavalos responderam de forma menos acentuada a música, não obtendo assim resposta efetiva.

É notável que existe diferença entre fêmeas e machos em relação a preferências, dentre elas, os gêneros musicais. Diferenças também foram apontadas na espécie humana em que [66] sugeriram que as respostas psicofisiológicas à música podem ser influenciadas pelo estado hormonal. Neste contexto, [67] indicou que os homens são mais propensos a experimentar menos ansiedade do que as mulheres após serem apresentadas a um agente estressor, sugerindo ainda que podem ficar menos ansiosos quando o estressor é menos iminente. Fato que ocorre também entre cavalos castrados e éguas [40].

Essa justificativa, da mesma maneira, pode ser considerada para as diferenças de temperaturas da pele e para a modulação autonômica cardíaca, onde [68] descrevem que em uma pequena amostra de voluntários homens, os mesmos não sofreram influência da estimulação auditiva musical com diferentes andamentos e estilos.

## 5. Conclusão

As músicas 9ª sinfonia de Beethoven (gênero clássica) e Rabl in my shoes de Hank Williams Jr (gênero country) promovem redução de estresse, e consequente efeito de relaxamento em éguas da raça Pantaneira durante o isolamento social e restrição de movimentos. Os cavalos castrados da raça Pantaneira expressaram resposta menos acentuada, demonstrando possível preferência pela música Horsing around de Janet Marlow (gênero new age), nas mesmas condições de manejo. A música pode ser utilizada como enriquecimento sonoro para equinos na circunstância específica do presente trabalho, sendo importante levar em consideração o gênero musical, sexo, raça, manejo e tempo de exposição.

**Financiamento:** Este estudo de pesquisa não recebeu financiamento externo.

**Declaração do Conselho de Revisão Institucional:** Todos os procedimentos realizados nestes estudos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS, Campo Grande, Brasil) sob o protocolo nº 1.222/2022.

**Declaração de consentimento informado:** O consentimento informado foi obtido de todos os sujeitos envolvidos no estudo.

**Declaração de disponibilidade de dados:** Os conjuntos de dados usados e/ou analisados para o estudo atual estão disponíveis no autor correspondente mediante solicitação razoável.

**Agradecimentos:** Gostaríamos de agradecer à Capes, Fundect e CNPq pelo apoio na condução da pesquisa, bem como ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS pela disponibilização dos materiais para nosso estudo. Seu apoio desempenhou um papel crucial na conclusão deste trabalho.

**Conflitos de interesse:** Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Referências

1. Krueger, K.; Esch, L.; Farmer, K.; Marr, I. Basic needs in horses? —a literature review. *Animals*. **2021**, *11*, 1–16.
2. De Lima, A. C. B.; Da Fé, V. C. S.; Hernandes, M. S. P.; Santos, V. M. O. Olfactory Stimulation as Environmental Enrichment for Domestic Horses—A Review. *Animals*. **2023**, *13*, 3180.
3. Mills, D. S.; Ricci-bonot, C.; Hall, S. S. Mental health issues in the horse. In: *Mental health and well-being in animals*. Wallingford UK: CABI. **2020**, 242-256.
4. Beaver, B. V. Equine behavioral medicine. *Academic Press*. **2019**.
5. Vitale, V.; Balocchi, R.; Varanini, M.; Sgorbini, M.; Macerata, A.; Sighieri, C.; Baragli, P. The effects of restriction of movement on the reliability of heart rate variability measurements in the horse (*Equus caballus*). *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. **2013**, *8*, 400–403.
6. Rørvang, M. V.; Nielsen, B. L.; Mclean, A. N. Sensory abilities of horses and their importance for equitation science. *Frontiers in veterinary science*. **2020**, *7*, 633.
7. Wiśniewska, M.; Janczarek, I.; Wilk, I.; Wnuk-Pawlak, E. Use of music therapy in aiding the relaxation of geriatric horses. *Journal of equine veterinary science*. **2019**, *78*, 89-93.
8. Stachurska, A.; Janczarek, I.; Wilk, I.; Kędzierski, W. Does music influence emotional state in race horses?. *Journal of Equine Veterinary Science*. **2015**, *35*, 650-656.
9. Kędzierski, W.; Janczarek, I.; Stachurska, A.; Wilk, I. Comparison of effects of different relaxing massage frequencies and different music hours on reducing stress level in race horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. **2017**, *53*, 100-107.
10. Kim, S. M.; Cho, G. J. Validation of eye temperature assessed using infrared thermography as an indicator of welfare in horses. *Applied Sciences*. **2021**, *11*, 7186.
11. Wathan, J.; Burrows, A. M.; Waller, B. M.; McComb, K. EquiFACS: The equine facial action coding system. *PLoS one*. **2015**, *10*, e0131738.
12. Mott, R. O.; Hawthorne, S. J.; McBride, S. D. Blink rate as a measure of stress and attention in the domestic horse (*Equus caballus*). *Scientific Reports*. **2020**, *10*, 1–8.
13. Lundblad, J.; Rashis, M.; Rhodin, M.; Haubro, A. P. Effect of transportation and social isolation on facial expressions of healthy horses. *PLoS ONE*. **2021**, *16*, 1–17.
14. Merkies, K.; Ready, C.; Farkas, L.; Hodder, A. Eye blink rates and eyelid twitches as a non-invasive measure of stress in the domestic horse. *Animals*. **2019**, *8*, 562.
15. Souza, C. D. F.; Tinôco, I. D. F.; Baêta, F. D. C.; Ferreira, W. P. M.; Silva, R. D. Avaliação de materiais alternativos para confecção do termômetro de globo. *Ciência e Agrotecnologia*. **2002**, *26*, 157-164.
16. Buffington, D. E.; Collazo-arocho, A.; Canton, G. H.; Pitt, D.; Thacher, W. W.; Collier, R. J. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transaction of the ASAE, St. Joseph*. **1981**, *24*, 711-714.
17. Baêta, F. C.; Souza, C. F. Ambiente em edificações rurais: conforto animal. 2ª ed. Viçosa: UFRV. **2010**.
18. Santos, S. A.; Paiva, S.; Comastri Filho, J. A.; Ramos, A.; Juliano, R.; Nogueira, M.; Peres, I. *Histórico, vivências e desafios do núcleo de conservação do cavalo Pantaneiro*. **2020**.
19. Senna, D.; Luiz, M. A.; Padilha, F. G. F.; Fonseca, A. B. M.; De Cassia, V. R.; Ferreira, A. M. R. Evaluation of physiological parameters of pantaneiro horses undergoing tourist ride/avaliacao dos parametros fisiologicos de equinos da raca pantaneira submetidos a cavalgada turistica/evaluacion de parametros fisiologicos de caballos pantaneiros sometidos a cabalgada turistica. *Veterinaria e Zootecnia*. **2017**, *24*, 140-144.
20. Silva, L. D.; Santos, S. A.; Silva, R. A. S.; McManus, C.; Petzold, H. Adaptação do cavalo pantaneiro ao estresse da lida diária de gado no Pantanal, Brasil. *Archivos de zootecnia*. **2005**, 509-513.
21. Hartman, N.; Greening, L. M. A Preliminary Study Investigating the Influence of Auditory Stimulation on the Occurrence of Nocturnal Equine Sleep-Related Behavior in Stabled Horses. *Journal of equine veterinary science*. **2019**, *82*, 102782.
22. Huo, X.; Wongkwanklom, M.; Phonrskds, T.; Na-lampang, P. Effects of playing classical music on behavior of stabled horses. *Veterinary Integrative Sciences*. **2021**, *19*, 259-267.
23. Houpt, K.; Marrow, M.; Seeliger, M. A preliminary study of the effect of music on equine behavior. *Journal of Equine Veterinary Science*. **2000**, *20*, 691-737.
24. Fureix, C.; Jegou, P.; Sankey, C.; Hausberger, M. How horses (*Equus caballus*) see the world: Humans as significant “objects”. *Animal Cognition*. **2009**, *12*, 643–654.
25. Clark, F. E.; Dunn, J. C. From Soundwave to Soundscape: A Guide to Acoustic Research in Captive Animal Environments. *Frontiers in Veterinary Science*. **2022**, *9*, 889117.
26. De Moraes, R. B. Estimativa de tons e acordes musicais mediante análise espectro-temporal. *Revista Foco*. **2023**, *16*, 948.
27. Nirmal, M. R.; Mohan, S. Music genre classification using spectrograms. In: *2020 International Conference on Power, Instrumentation, Control and Computing (PICC)*. **2020**, 1-5.
28. De Lima, A. R.; Nanni, L. Music genre recognition using spectrograms with harmonic-percussive sound separation. In: *35th International Conference of the Chilean Computer Science Society (SCCC)*. **2016**, 1-7.
29. Lecoq, L.; Gains, M.; Blond, L.; Parent, J. Brainstem auditory evoked responses in foals: reference values, effect of age, rate of acoustic stimulation, and neurologic deficits. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. **2015**, *29*, 362-367.
30. Goodwin, S. D. Comparison of body temperatures of goats, horses, and sheep measured with a tympanic infrared thermometer, an implantable microchip transponder, and a rectal thermometer. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. **1998**, *37*, 51-55.

31. Art, J. S.; Lekeux, P. Transient respiration locomotion decoupling in galloping Thoroughbreds. *Equine Vet J.* **1995**.
32. Jodkowska, E.; Dudek, K.; Soroko, M. Temperature range analysis ( $T_{max}$ ) on dorsal surface of sporting horses. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences.* **2015**, *39*, 229-232.
33. Marlin, D. J.; Scott, C. M.; Mills, P. C.; Louwes, H.; Vaarten, J. Rehydration following exercise, effects of administration of water versus an isotonic oral rehydration solution. *The Veterinary Journal.* **1998**, *156*, 41-49.
34. Ekman, P. Facial action coding system (FACS). *A human face.* **2002**.
35. Friedman, B. H.; Thayer, J. F. Anxiety and autonomic flexibility: a cardiovascular approach. *Biological psychology.* **1998**, *47*, 243-263.
36. McGreevy, P.; Christensen, J. W.; Von Borstel, U. K.; McLean, A. Equitation science. *John Wiley & Sons.* **2018**.
37. Von Borell, E.; Langbein, J.; Després, G.; Hansen, S.; Leterrier, C.; Marchant, J.; Veissier, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals—A review. *Physiology & behavior.* **2007**, *92*, 293-316.
38. Acharya, U. R.; Joseph, K. P.; Kannathal, N.; Min, L. C.; Suri, J. S. Heart rate variability. *Advances in cardiac signal processing.* **2007**, 121-165.
39. Ohmura, H.; Jones, J. H. Changes in heart rate and heart rate variability as a function of age in thoroughbred horses. *Journal of equine science.* **2017**, *28*, 99-103.
40. Barton, A.; Lindenberg, I.; Einspanier, A.; Merle, R.; Gehlen, H. Evaluation of the effect of tongue ties on stress parameters, behaviour and heart-rate variability in racehorses. *Animal Welfare.* **2022**, *31*, 231-241.
41. Feitosa, F. L. F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.* São Paulo: Roca. **2004**, 807.
42. Itao, K.; Komazawa, M.; Kobayashi, H. A study into blood flow, heart rate variability, and body surface temperature while listening to music. *Health.* **2018**, *10*, 181-188.
43. Ciborowska, P.; Michalczuk, M.; Bién, D. The effect of music on livestock: Cattle, poultry and pigs. *Animals.* **2021**, *11*, 3572.
44. Da Silva, S. A. F.; Guida, H. L.; Dos Santos, A. M.; Vanderlei, L. C. M.; Ferreira, L. L.; De Abreu, L. C.; Valenti, V. E. Auditory stimulation with music influences the geometric indices of heart rate variability in men. *International archives of medicine.* **2014**, *7*, 1-7.
45. Kemp, A. The Effects of Music on Dairy Production. *Murray State University Honors College: Murray, KY, USA.* **2019**.
46. Neveux, C.; Ferard, M.; Dickel, L.; Bouet, V.; Petit, O.; Valençon, M. Classical music reduces acute stress of domestic horses. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research.* **2016**, *15*, 81.
47. König, U.; Borstel, E. K.; Visser, C. H. Indicators of stress in equitation. *Applied Animal Behaviour Science.* **2017**, *190*, 43-56.
48. Vinkers, C. H.; Penning, R.; Hellhammer, J.; Verster, J. C.; Klaessens, J. H.; Olivier, B.; Kalkman, C. J. The effect of stress on core and peripheral body temperature in humans. *Stress.* **2013**, *16*, 520-530.
49. Kay, R.; Hall, C. The use of a mirror reduces isolation stress in horses being transported by trailer. *Applied Animal Behaviour Science.* **2009**, *116*, 237-243.
50. Luzi, F.; Ludwig, N.; Gargano, M.; Milazzo, M.; Carenzi, C.; Verga, M. Evaluation of skin temperature change as stress indicator in rabbit through infrared thermography. *Italian Journal of Animal Science.* **2007**, *6*, 769.
51. Yarnell, K. An investigation into the use of infrared thermography as a tool to assess the physiological stress response in the horse. *Nottingham Trent University (United Kingdom).* **2011**.
52. McGreevy, P.; Warren-Smith, A.; Guisard, Y. The effect of double bridles and jawclamping crank nosebands on temperature of eyes and facial skin of horses. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research.* **2012**, *7*, 142-148.
53. Valera, M.; Bartolomé, E.; Sánchez, M. J.; Molina, A.; Cook, N.; Schaefer, A. Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competitions. *Journal of Equine Veterinary Science.* **2012**, *32*, 827-830.
54. Bartolomé, E.; Sánchez, M. J.; Molina, A.; Schaefer, A. L.; Cervantes, I.; VALERA, M. Using eye temperature and heart rate for stress assessment in young horses competing in jumping competitions and its possible influence on sport performance. *Animal.* **2013**, *7*, 2044-2053.
55. Stewart, M.; Stafford, K. J.; Dowling, S. K.; Schaefer, A. L.; Webster, J. R. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & Behavior.* **2008**, *93*, 789-797.
56. Cook, N.; Schaefer, A.; Warren, L.; Burwash, L.; Anderson, M.; Baron, V. Adrenocortical and metabolic responses to ACTH injection in horses: An assessment by salivary cortisol and infrared thermography of the eye. *Can. J. Anim. Sci.* **2001**, *81*, 621.
57. Yarnell, K.; Hall, C.; Billett, E. An assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behavioral and physiological measures. *Physiology & behavior.* **2013**, *118*, 32-39.
58. Tomberg, C.; Petagna, M.; De selliers, L. M. Horses (*Equus caballus*) facial micro-expressions: insight into discreet social information. *Scientific Reports.* **2023**, *13*, 8625.
59. Mendl, M.; Burman, O. H. P.; Paul, E. S. An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* **2010**, *277*, 2895-2904.
60. Lundblad, J.; Rashid, M.; Rhodin, M.; Andersen, P. H. Facial expressions of emotional stress in horses. *Biorxiv.* **2020**, *10*.
61. Rashid, M.; Silventoinen, A.; Gleerup, K. B.; Andersen, P. H. Equine Facial Action Coding System for determination of pain-related facial responses in videos of horses. *Plos one.* **2020**, *11*.
62. Kovac, M.; Ippolitova, T. V.; Pozyabin, S.; Aliev, R.; Lobanova, V.; Drakul, N.; Rutland, C. S. (2022). *Equine Stress: Neuroendocrine Physiology and Pathophysiology.* **2022**.
63. Ask, K.; Rhodin, M.; Rashid-Engström, M.; Hernlund, E.; Andersen, P. H. Changes in the equine facial repertoire during different orthopedic pain intensities. *Scientific Reports.* **2024**, *14*, 129.

- 1530 64. Lemasson, A.; Remeuf, K.; Tralalon, M.; Cuir, F.; Hausberger, M. Mares prefer the voices of highly fertile stallions. *PLoS One*.  
1531 **2015**, 10.
- 1532 65. Lindig, A. M.; McGreevy, P. D.; Crean, A. J. Musical dogs: A review of the influence of auditory enrichment on canine health  
1533 and behavior. *Animals*. **2020**, 10, 127.
- 1534 66. Nater, U. M.; Abbruzzese, E.; Krebs, M.; Ehlert, U. Sex differences in emotional and psychophysiological responses to musical  
1535 stimuli. *International journal of psychophysiology*. **2006**, 62, 300-308.
- 1536 67. Williams, J. E. Gender-related worry and emotionality test anxiety for highachieving students. *Psychology in the Schools*. **1996**,  
1537 33, 159-162.
- 1538 68. Da Silva, S. A. F.; Guida, H. L.; Dos Santos, A. M.; Vanderlei, L. C. M.; Ferreira, L. L.; De Abreu, L. C.; Valenti, V. E. Auditory  
1539 stimulation with music influences the geometric indices of heart rate variability in men. *International archives of medicine*. **2014**,  
1540 7, 1-7.