



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

<p><b>DA FÉ, V. C. S.</b></p>	<p><b>EFEITO DO ENRIQUECIMENTO SONORO SOBRE RESPOSTAS FACIAIS E FISIOLÓGICAS DE CAVALOS CASTRADOS E ÉGUAS DA RAÇA PANTANEIRA SOB ESSES TRÊS PERÍODOS DE CURTA DURAÇÃO</b></p>	<p><b>2024</b></p>
-------------------------------	---	--------------------

**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 Ambiente, 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>
<b>2.1</b>	Desafios usuais enfrentados no ambiente doméstico	<b>14</b>
<b>2.2</b>	Indicadores não invasivos de estresse	<b>15</b>
<b>2.3</b>	Enriquecimento sonoro na produção animal	<b>17</b>
<b>2.4</b>	Percepção auditiva em equinos	<b>23</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>28</b>
	<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>	Introdução	<b>32</b>
<b>2</b>	Materiais e Métodos	<b>33</b>
<b>2.1</b>	Local	<b>33</b>
<b>2.2</b>	Parâmetros microclimáticos	<b>33</b>
<b>2.3</b>	Animais e instalação	<b>34</b>
<b>2.4</b>	Delineamento experimental	<b>34</b>
<b>2.5</b>	Protocolo experimental	<b>35</b>
<b>2.6</b>	Parâmetros fisiológicos	<b>36</b>
<b>2.6.1</b>	Frequência cardíaca (FC) e variabilidade da frequência cardíaca (VFC)	<b>36</b>
<b>2.6.2</b>	Frequência respiratória (FR)	<b>37</b>
<b>2.6.3</b>	Temperatura ocular por termografia infravermelha (TOT)	<b>37</b>
<b>2.6.4</b>	Temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST)	<b>37</b>
<b>2.7</b>	Expressões faciais (EF)	<b>38</b>
<b>2.8</b>	Descrição estatística	<b>40</b>
<b>3.</b>	Resultados	<b>41</b>
<b>3.1</b>	Experimento I	<b>41</b>
<b>3.2</b>	Experimento II	<b>49</b>
<b>4.</b>	Discussão	<b>56</b>
<b>5.</b>	Conclusão	<b>59</b>
	Referências	<b>60</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Espectrogramas dos tratamentos experimentais	<b>35</b>
<b>Figura 2.</b> Configuração experimental	<b>36</b>
<b>Figura 3.</b> Protocolo experimental	<b>36</b>
<b>Figura 4.</b> Ilustração dos pontos de coleta das temperaturas timpânica, e superficiais do pescoço, cernelha, dorso, garupa e inserção da cauda	<b>38</b>
<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	<b>41</b>
<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	<b>43</b>
<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	<b>45</b>
<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	<b>45</b>
<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	<b>46</b>
<b>Figura 10.</b> Biplot bidimensional da análise de componentes principais das fêmeas com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento	<b>48</b>
<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	<b>50</b>
<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	<b>51</b>
<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	<b>53</b>
<b>Figura 14.</b> Biplot bidimensional da análise de componentes principais dos machos com as expressões faciais e as observações separadas por tratamento	<b>55</b>

## 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 (Haupt, 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.

## 29 **2. CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA**

### 30 **2.1 Desafios usuais enfrentados no ambiente doméstico**

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

37 É comum que equinos estabulados sejam mantidos em isolamento social. Entretanto,  
38 para uma espécie que naturalmente vive em manada é ideal o contato com coespecíficos devido  
39 à pressão evolutiva e, conseqüente, vulnerabilidade como presa (Mills et al., 2020). Nesse  
40 contexto, a restrição de movimentos advinda das limitações físicas impostas aos animais criados  
41 em sistema intensivo é prejudicial, se considerarmos que os cavalos em vida livre percorrem  
42 em média 18 Km por dia, enquanto os cavalos domésticos mantidos a pasto, algo em torno de  
43 6,5 Km diários. Em contraste, os cavalos domésticos estabulados que, mesmo com tempo de  
44 soltura em piquetes, andam aproximadamente menos de 1,6 Km por dia (Beaver, 2019).

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

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

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

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

69

## 70 **2.2 Indicadores não invasivos de estresse**

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

77 A frequência cardíaca (FC) é um indicador não invasivo, medida pelo número de ba-  
78 timentos por minuto (bpm). Quando um animal é submetido ao estresse, a FC é elevada, au-  
79 mentando o fluxo sanguíneo para suprir a demanda de oxigênio dos músculos (Redaelli et al.,  
80 2010; Konig et al., 2017). Juntamente com a FC, a análise da variabilidade da frequência car-  
81 díacada pode ser aplicada na avaliação do estresse, sendo mensurada pela variação dos interva-  
82 los entre os batimentos cardíacos, e capaz de medir o equilíbrio entre os tónus simpático e  
83 parassimpático, fornecendo maior detalhe da resposta e reatividade do que apenas a frequência  
84 cardíaca (Rietmman et al., 2004; Stewart et al., 2008; Konig et al., 2017).

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

92 A região auricular é uma zona com numerosos vasos sanguíneos que permitem  
93 observar alterações circulatórias, em que na presença de estressor, a vasculatura presente  
94 responde à influência simpática que controla o tônus vasomotor nas artérias que dissipam  
95 quantidades maiores ou menores de calor dependendo do fluxo sanguíneo (Ludwig et al., 2007).  
96 Durante a reação de defesa/alarme em equinos pode ocorrer vasoconstrição e subsequente  
97 diminuição da temperatura auricular, considerada um indicador não invasivo (Kay & Hall,  
98 2009).

99 Ademais, tem-se uma técnica que oferece a possibilidade de operar à uma certa dis-  
100 tância, interferindo minimamente no comportamento, evitando estresse adicional ao sujeito, a  
101 chamada termografia infravermelha, em que uma diminuição seguida de aumento da tempera-  
102 tura ocular (carúncula lacrimal) aferida por termografia foi relatada como um indicador confi-  
103 ável de estresse (McGreevy et al., 2012; Valera et al., 2012).

104 A análise das respostas fisiológicas ao estresse pode ser complementada com observa-  
105 ções do comportamento (Pawluski et al., 2017), como as expressões faciais. Em humanos, o  
106 Sistema de Codificação de Ação Facial (FACS) fornece um método para identificar e registrar  
107 expressões faciais com base no movimento visível dos músculos faciais subjacentes (Ekman,  
108 2002). A codificação requer treinamento e pode-se esperar uma codificação confiável de codi-  
109 ficadores certificados. Com base na metodologia FACS, Wathan et al. (2015), desenvolveram  
110 o Equine Facial Action Coding System (EquiFACS).

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

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

118 Os equinos têm a capacidade de gerar um repertório notável de expressões faciais,  
119 algumas das quais têm sido associadas a determinados estados emocionais, como no caso do  
120 estresse, sendo esta atividade facial uma ferramenta para avaliação do bem-estar em mamíferos  
121 (Wathan et al., 2015). Poucos estudos foram realizados em cavalos para avaliar as expressões  
122 faciais durante situações de manejo potencialmente estressantes, como tosquia (Mott et al.,  
123 2020), transporte (Lundblad et al., 2021), restrição alimentar (Merkies et al., 2019) e isolamento  
124 social (Lundblad et al., 2021).

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

128

### 129 **2.3 Enriquecimento sonoro na produção animal**

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

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

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

143 O enriquecimento ambiental possui o intuito de promover maior qualidade de vida para  
144 os animais em cativeiro por meio do oferecimento de estímulos capazes de motivá-los a realizar  
145 comportamentos considerados inerentes à espécie, e auxiliá-los na redução de frustrações, cul-  
146 minando com melhor bem-estar e desempenho produtivo (Campos et al., 2010; Martin et al.,  
147 2015; Souza, 2022). Pode ser classificado em social, alimentar, sensorial, físico e cognitivo.

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

154 Em tese, o enriquecimento pode ser usado para atingir quatro objetivos (Sueur & Pelé,  
155 2019). O primeiro é aumentar a diversidade comportamental do animal, quer esses comporta-  
156 mentos sejam naturais ou não naturais, mas levam a um melhor nível de bem-estar. O segundo  
157 objetivo é reduzir a frequência de comportamentos anormais definidos como estereotípias. O  
158 terceiro consiste em aumentar o número de comportamentos naturais por enriquecimento, mui-  
159 tas vezes para fins de conservação de espécies, e o quarto objetivo consiste em aumentar o uso  
160 positivo e pleno do ambiente cativo, seja fazenda ou zoológico.

161 É conhecido que alguns animais percebem e se comunicam sobre o mundo em manei-  
162 ras muito diferentes dos humanos. Havendo, deste modo, a comunicação por meio de infrassom  
163 (ondas sonoras extremamente graves, com frequências abaixo dos 20 Hz) emitidas por elefan-  
164 tes, golfinhos e baleias, e ultrassom (ondas sonoras superiores à 20.000 Hz) emitidas por mor-  
165 cegos e alguns roedores (Stevens, 2015). A audição humana decodifica sons tão somente que  
166 se estendam entre as frequências de 20 a 20.000 Hz (Usberco et al., 2015).

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

171 Alguns trabalhos foram realizados testando gêneros diferentes de música nas mais va-  
172 riadas espécies, como em cães (Kogan et al., 2012; Da Silva et al., 2019), equinos (Haupt et al.  
173 2000), bovinos leiteiros (Crouch et al., 2019; Pinkerton, 2022) e até mesmo em humanos (Sung  
174 et al., 2008; Becknell et al., 2008). De maneira geral, nota-se que exposição às músicas mais  
175 lentas, de melodia suave, sugerem reduzir a agitação, propiciar o sono e diminuir o estresse,  
176 promovendo assim um efeito relaxante, por exemplo, nos gêneros musicais clássica e jazz. Já  
177 efeitos pesados e/ou enérgicos na música, promovem comportamentos que sugerem aumento  
178 na agitação, e que pode ser um indicativo de estresse, como exemplo, músicas dos gêneros rock  
179 hard e heavy metal.

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

185

## 186 **2.4 Percepção auditiva em equinos**

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

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

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

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

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

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

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

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

222 mas também para descobrir como avançar sem ser visto. Em presas, a localização fornece in-  
223 formações sobre a direção da aproximação de predadores, mesmo antes que eles possam ser  
224 vistos, e assim também indicar possíveis vias de fuga. Desta maneira, a audição e a visão pa-  
225 recem desempenhar papéis complementares.

226 Sabe-se que a velhice afeta a capacidade auditiva em muitos animais, incluindo huma-  
227 nos. Em cavalos, apenas o estudo de Ödberg (1978) investigou a capacidade auditiva em fun-  
228 ção da idade, constatando que cavalos mais velhos (15-18 anos de idade) mostraram menos  
229 reações comportamentais aos sons, do que cavalos mais jovens (5-9 anos de idade). Desde  
230 então, nenhuma publicação de estudos tem investigado a idade e deficiência auditiva em equi-  
231 nos.

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

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

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

246 A música instrumental de violão pode ter uma influência positiva em cavalos de corrida  
247 árabes quando tocada por 5 horas diariamente por um período de 1 a 3 meses, após isto o efeito  
248 positivo diminuiu (Stachurska et al., 2015). O mesmo tipo de música foi testado por Kedzierski  
249 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

278 **REFERÊNCIAS**

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

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

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

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. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 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
<b>Média</b>	<b>29,8</b>	<b>69,9</b>	<b>79,2</b>
<b>DP</b>	<b>1,5</b>	<b>4,9</b>	<b>1,4</b>
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
<b>Média</b>	<b>25,6</b>	<b>84,5</b>	<b>73,9</b>
<b>DP</b>	<b>3,6</b>	<b>10,2</b>	<b>2,6</b>

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.

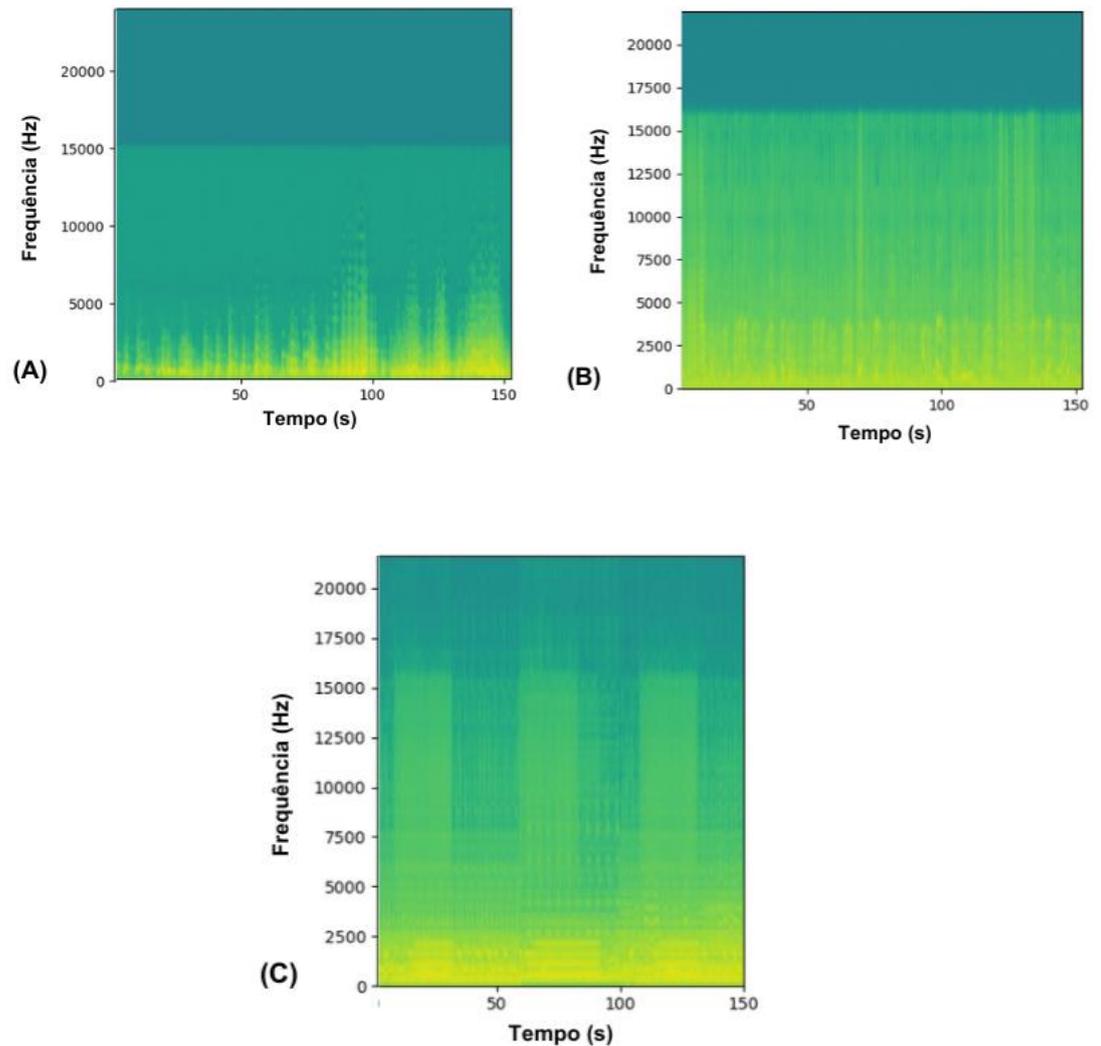
### 2.4 Delineamento experimental

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.



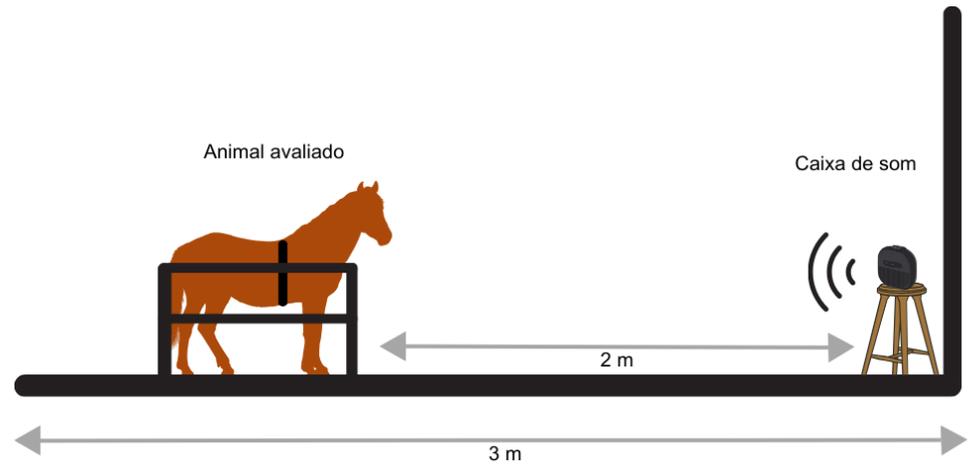
**Figura 1.** Espectrogramas dos tratamentos experimentais. (A) Clássica (Beethoven - 9ª sinfonia); (B) Country (Hank Williams Jr - Ramblin in my shoes); (C) New Age (Janet Marlow - Horsing around)

### 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.

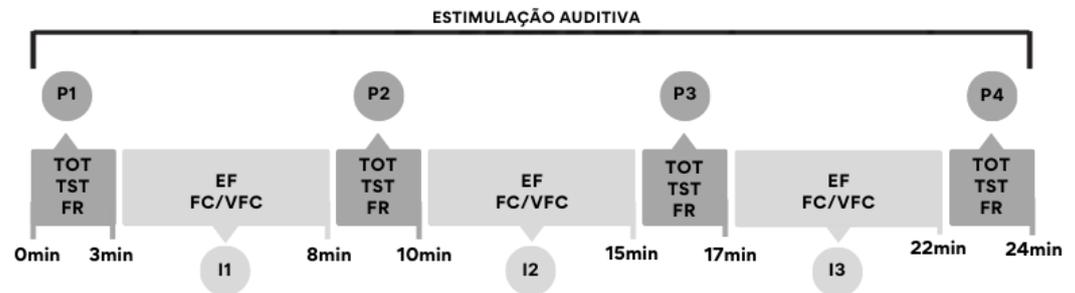
Durante o período experimental, para o isolamento social e restrição de movimentos cada indivíduo foi levado ao tronco de contenção em uma área coberta, com laterais parcialmente fechadas, impossibilitando o contato visual com coespecíficos, e então administrado o tratamento experimental ou controle.

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.



667 **Figura 2.** Configuração experimental  
668

669 Os parâmetros fisiológicos e a expressão facial foram avaliados durante a apresen-  
670 tação do estímulo auditivo. Os indicadores temperatura ocular por termografia infraver-  
671 melha (TOT), temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST) e frequência  
672 respiratória (FR) foram coletados pontualmente nos pontos P1, P2, P3 e P4. Já os indica-  
673 dores expressões faciais (EF) e frequência cardíaca e variabilidade da frequência cardíaca  
674 (FC/VFC) foram coletados continuamente ao longo de intervalos de cinco minutos identi-  
675 ficados como I1, I2 e I3 (Figura 3).



676 **Figura 3.** Protocolo experimental. TOT = temperatura ocular por termografia infraverme-  
677 lha; TST = temperatura superficial por termômetro infravermelho; FR = frequência respi-  
678 ratória; EF = expressões faciais; FC = frequência cardíaca; VFC = variabilidade da frequên-  
679 cia cardíaca  
680

## 681 2.6 Parâmetros fisiológicos

### 682 2.6.1 Frequência cardíaca (FC) e variabilidade da frequência cardíaca (VFC)

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

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

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

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

#### 700 2.6.2 Frequência respiratória (FR)

701 A frequência respiratória, mensurada em movimentos por minuto (mpm), foi reali-  
702 zada pela contagem dos movimentos do flanco por 30 segundos. Para se obter o valor de  
703 frequência foi multiplicado o valor obtido em 30 segundos por 2, para o cálculo de movi-  
704 mentos respiratórios por um minuto.

#### 705 2.6.3 Temperatura ocular por termografia infravermelha (TOT)

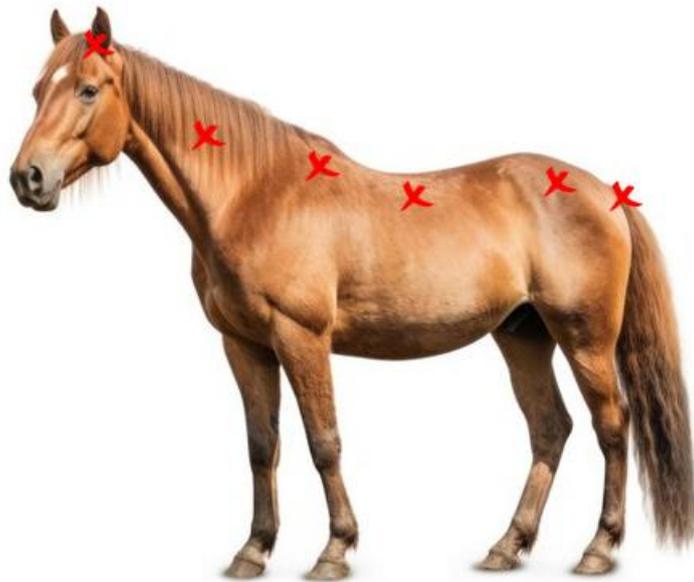
706 Foram coletadas imagens termográficas do olho para mensuração da temperatura  
707 superficial na região do canto medial, como proposto por [10]. As imagens foram coleta-  
708 das do lado esquerdo num ângulo de 90° (graus) do plano sagital do animal por meio de  
709 uma câmera termográfica (S60,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

#### 714 2.6.4 Temperatura superficial por termômetro infravermelho (TST)

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

- 719 - Timpânica: ponto central da membrana timpânica, sob a orelha esquerda do animal  
720 [30];
- 721 - Superficial de pescoço: ponto médio da linha que une o ponto mais caudal do osso  
722 Atlas com o ponto mais proeminente da crista escapular. Esta região do pescoço tem uma  
723 rica irrigação sanguínea, e esta metodologia foi baseada nos estudos de [31];
- 724 - Superficial de cernelha: localizada na linha mediana, região ímpar situada em posição  
725 cranial, na parte dorsal superior do tronco [32];
- 726 - Superficial de dorso: ponto médio da linha que une o ponto mais caudal da cartilagem  
727 escapular com a tuberosidade ilíaca. Este ponto mostra grande variabilidade térmica, e é  
728 considerado representativo da média da superfície corporal, conforme metodologia ado-  
729 tada por [33];
- 730 - Superficial de garupa: ponto médio da linha que une a tuberosidade ilíaca com a inser-  
731 ção da cauda segundo metodologia proposta por [34];
- 732 - Superficial da inserção da cauda: ponto único da junção das vértebras sacral e caudal,  
733 projeção da artéria coccígea a 10 cm do início da cauda na porção ventral [33].

734 O termômetro infravermelho foi direcionado sobre o pelame do animal à uma dis-  
735 tância de 1 m, com exceção da timpânica e inserção da cauda que foram coletadas à uma  
736 distância de 0,5 m. Para avaliação foram selecionadas a temperatura timpânica e tempe-  
737 ratura superficial corporal (obtida a partir da média de todos os pontos coletados exclu-  
738 indo 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:

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



## 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

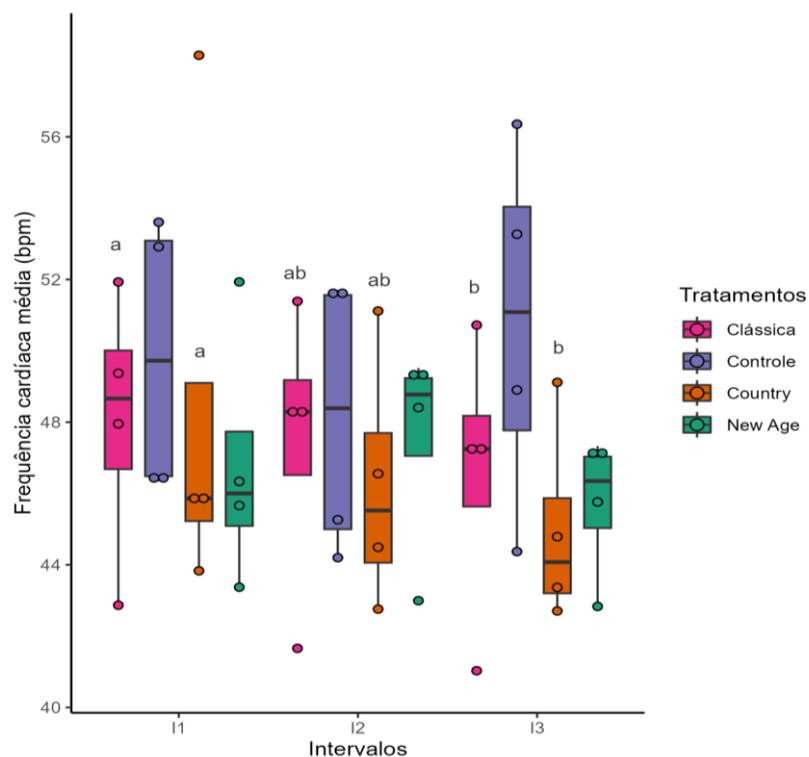
#### 3.1 Experimento I

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	<b>48,66(3,33)<sup>a</sup></b>	<b>48,29(2,66)<sup>ab</sup></b>	<b>47,25(2,54)<sup>b</sup></b>
	New Age	46,00(2,65)	48,77(2,18)	46,35(2,00)
	Country	<b>45,86(3,87)<sup>a</sup></b>	<b>45,52(3,64)<sup>ab</sup></b>	<b>44,08(2,67)<sup>b</sup></b>
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]

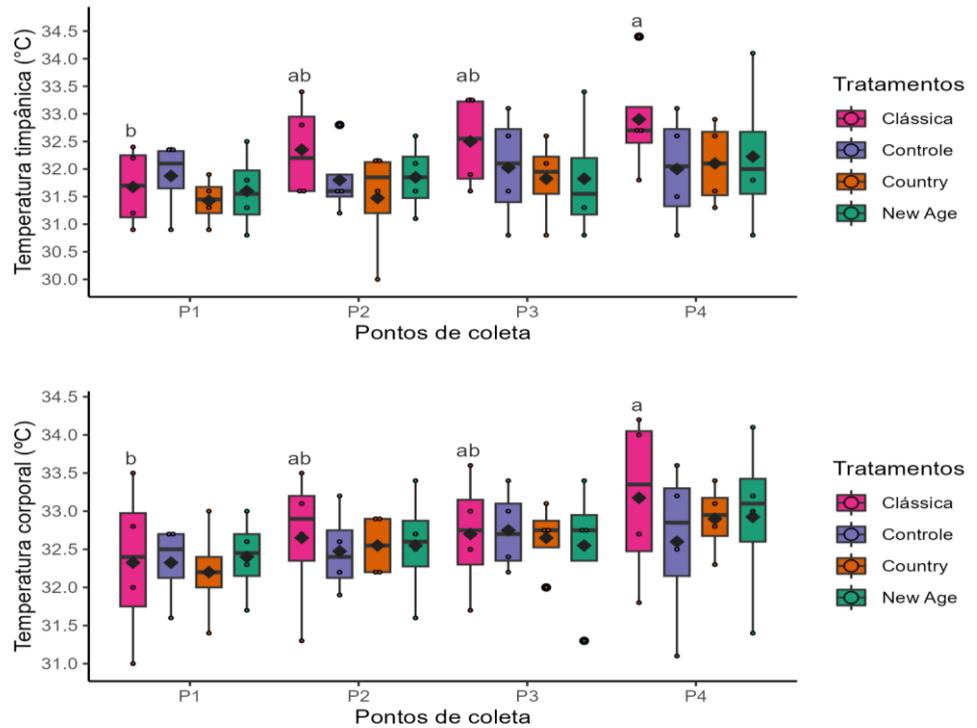
885 As temperaturas timpânica e corporal apresentaram efeito ( $p < 0,05$ ) ao longo dos  
 886 pontos de coleta (P1, P2, P3 e P4) para o tratamento clássica, sugerindo que esta variável  
 887 aumentou do primeiro para o quarto ponto de coleta (Tabela 3; Figura 6). A frequência  
 888 respiratória e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

890 **Tabela 3.** Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle,  
 891 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	<b>31,7±0,74<sup>b</sup></b>	<b>32,4±0,90<sup>ab</sup></b>	<b>32,5±0,88<sup>ab</sup></b>	<b>32,9±1,09<sup>a</sup></b>
	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	<b>32,3±1,08<sup>b</sup></b>	<b>32,6±0,96<sup>ab</sup></b>	<b>32,7±0,80<sup>ab</sup></b>	<b>33,2±1,13<sup>a</sup></b>
	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

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

896  
897  
898  
899  
900  
901  
902  
903  
904  
905  
906  
907  
908  
909  
910



**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.

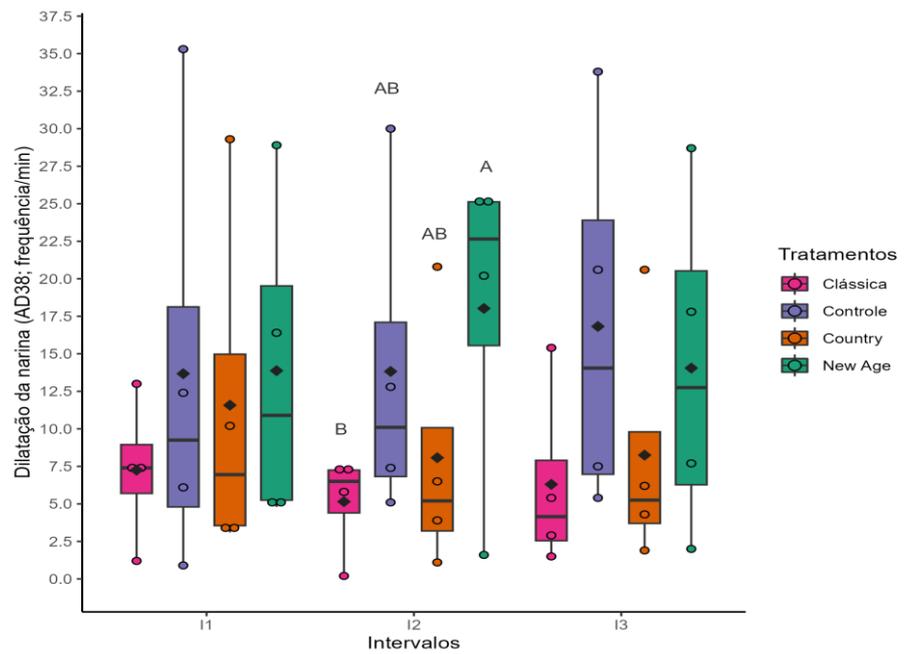
A frequência da unidade de ação facial meia piscada (AU47) no intervalo três (I3) foi maior ( $p < 0,05$ ) para o tratamento controle, e menor para o tratamento clássica. Os tratamentos new age e country não diferiram entre si (Figura 9).

**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.

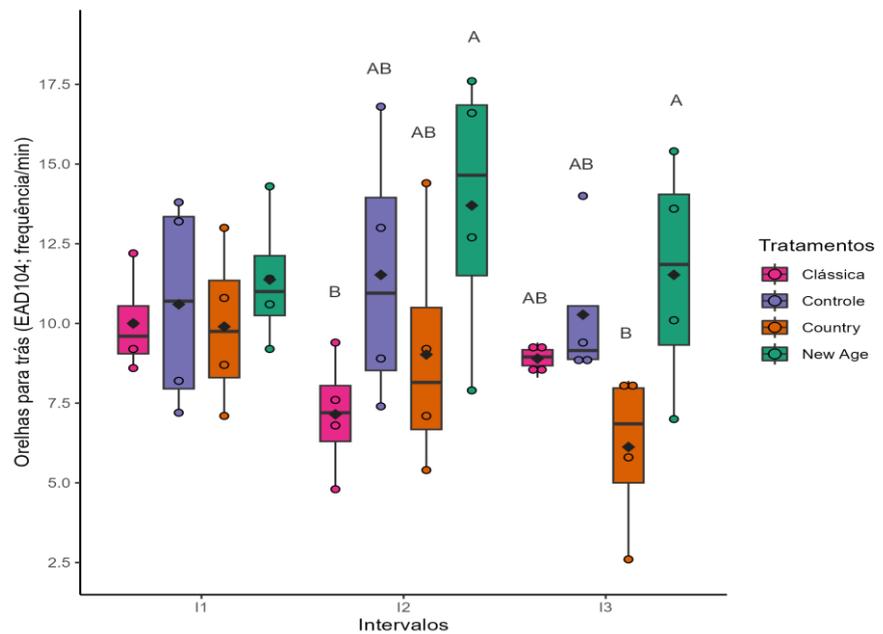
Parâmetros	Tratamentos	Intervalos		
		I1	I2	I3
Levantador de sobrelha interna (AU101)	Controle	2,20±1,09	1,80±2,16	2,12±1,79
	Clássica	1,40±1,18	1,35±1,11	1,23±0,97
	New Age	2,58±2,55	3,10±3,15	2,70±2,25
	Country	1,30±0,74	1,08±0,854	1,10±0,62
Dilatação da narina (AD38)	Controle	13,70±15,20	<b>13,80±11,30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

Orelhas para frente (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 (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 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 (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)

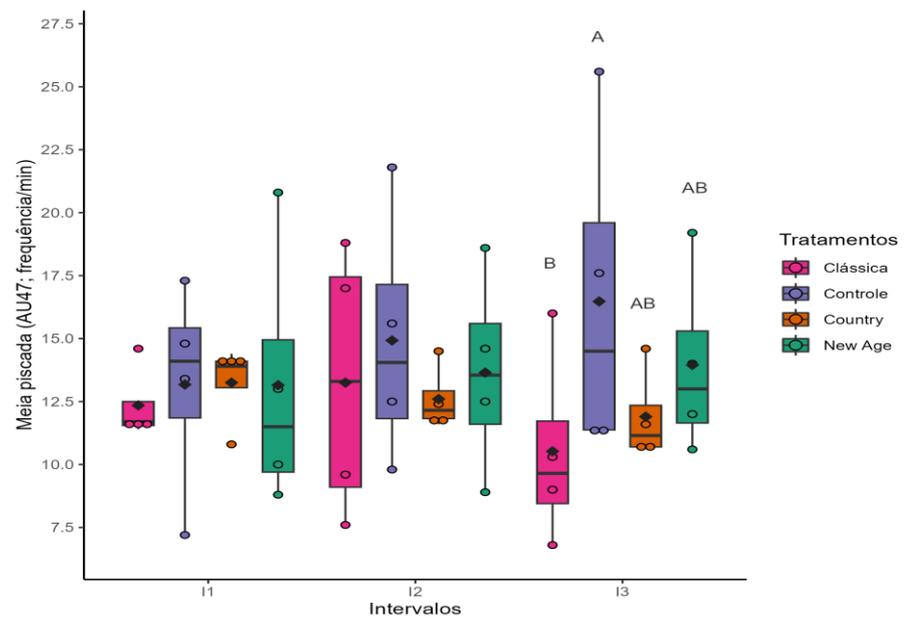
Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test ao longo dos intervalos para um mesmo tratamento ( $p < 0,05$ ), sendo que  $a > b$ ; Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa do post-hoc test entre os tratamentos em um mesmo intervalo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



946  
947  
948  
949  
950  
951  
952  
**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]



953  
954  
955  
956  
957  
958  
959  
960  
961  
**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.

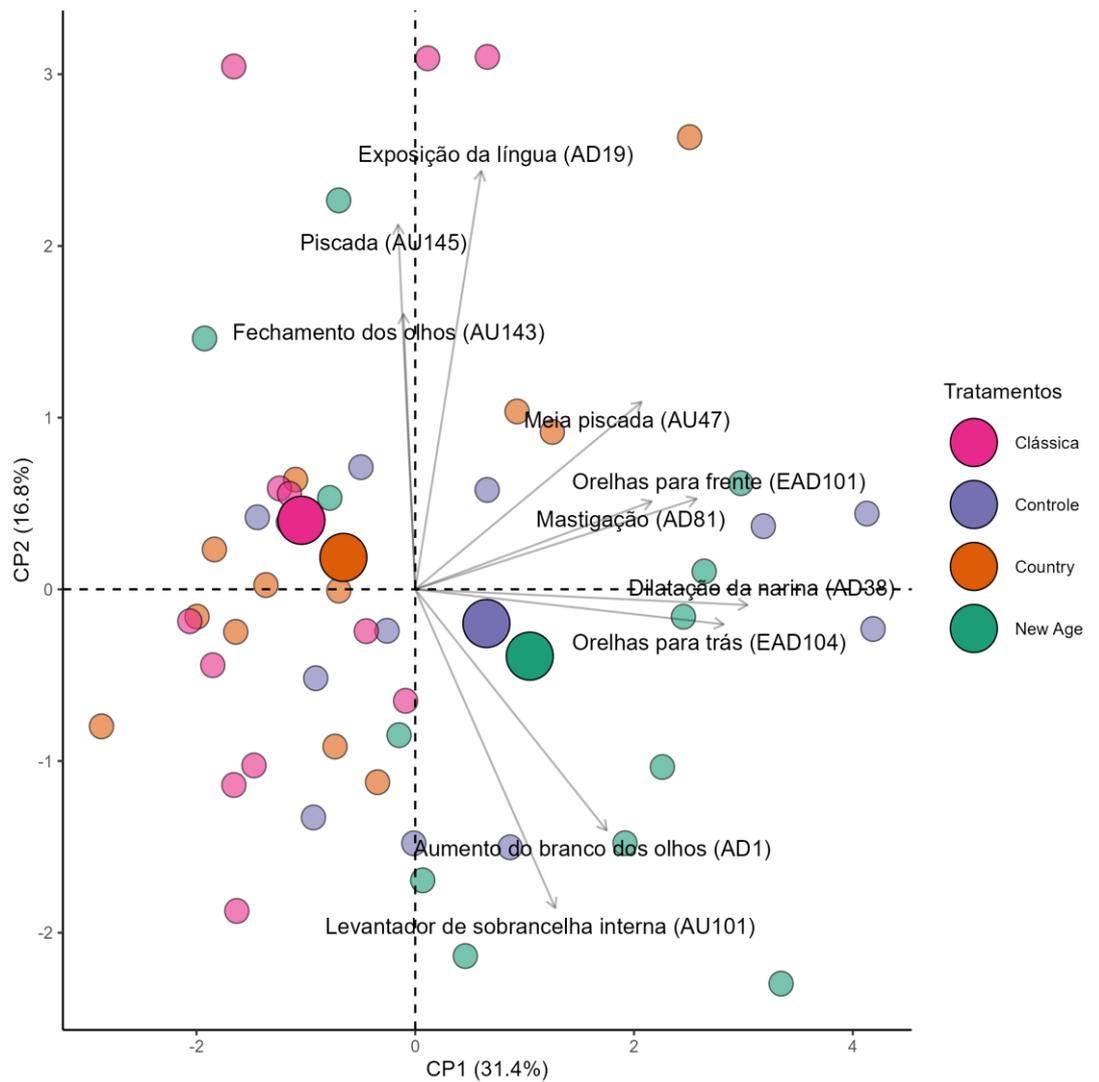
A piscada (AU145), exposição da língua (AD19) e fechamento dos olhos (AU143) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC2. Já o levantador de sobrancelha interna (AU101) foi a única expressão facial que demonstrou associação negativa com o PC2.

**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)

1032  
 1033  
 1034  
 1035  
 1036  
 1037  
 1038  
 1039  
 1040  
 1041  
 1042  
 1043  
 1044  
 1045

### 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  $A>B$ .

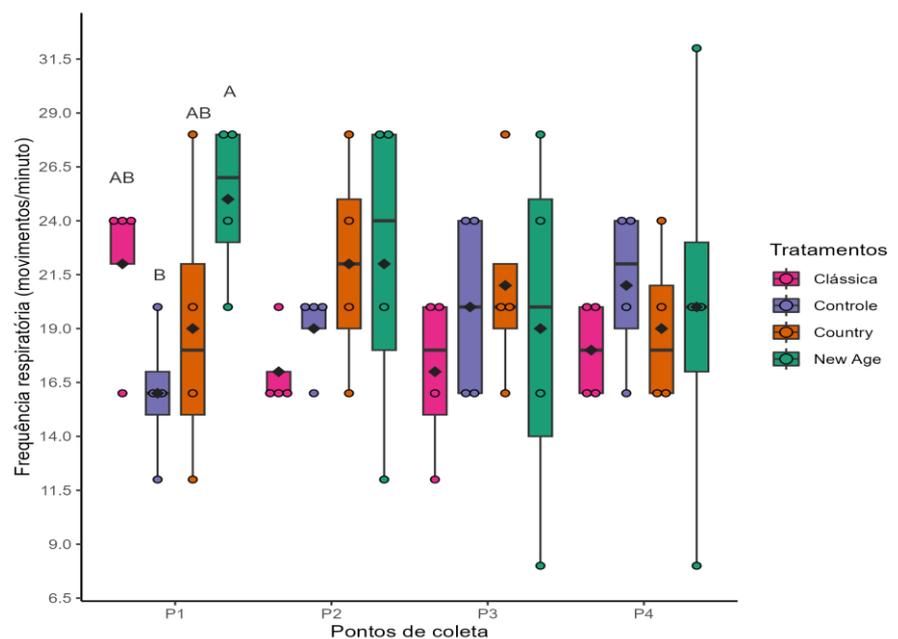
A frequência respiratória no primeiro ponto de coleta (P1) foi maior ( $p<0,05$ ) para o tratamento new age e menor para controle, e os demais não diferiram. Houve efeito ( $p<0,05$ ) para temperatura ocular ao longo dos pontos de coleta (P1, P2, P3 e P4) nos tratamentos controle e country, sugerindo 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.

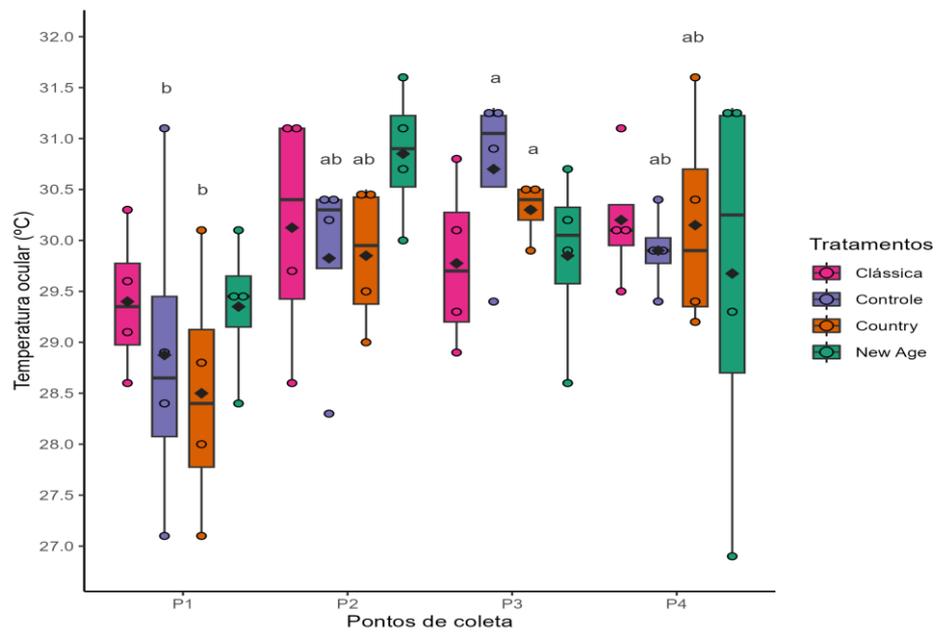
**Tabela 7.** Média e desvio-padrão dos parâmetros fisiológicos do tratamento controle, clássica, new age e country dos machos ao longo de quatro pontos de coleta.

Parâmetros	Tratamentos	Pontos de coleta			
		P1	P2	P3	P4
Frequência respiratória	Controle	<b>16,0±3,27<sup>B</sup></b>	19,0±2,00	20,0±4,62	21,0±3,83
	Clássica	<b>22,0±4,00<sup>AB</sup></b>	17,0±2,00	17,0±3,83	18,0±2,31
	New Age	<b>25,0±3,83<sup>A</sup></b>	22,0±7,66	19,0±8,87	20,0±9,80
	Country	<b>19,0±6,83<sup>AB</sup></b>	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	<b>28,9±1,67<sup>b</sup></b>	<b>29,8±1,02<sup>ab</sup></b>	<b>30,7±0,88<sup>a</sup></b>	<b>29,9±0,41<sup>ab</sup></b>
	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	<b>28,5±1,27<sup>b</sup></b>	<b>29,8±0,72<sup>ab</sup></b>	<b>30,3±0,28<sup>a</sup></b>	<b>30,2±1,10<sup>ab</sup></b>
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.

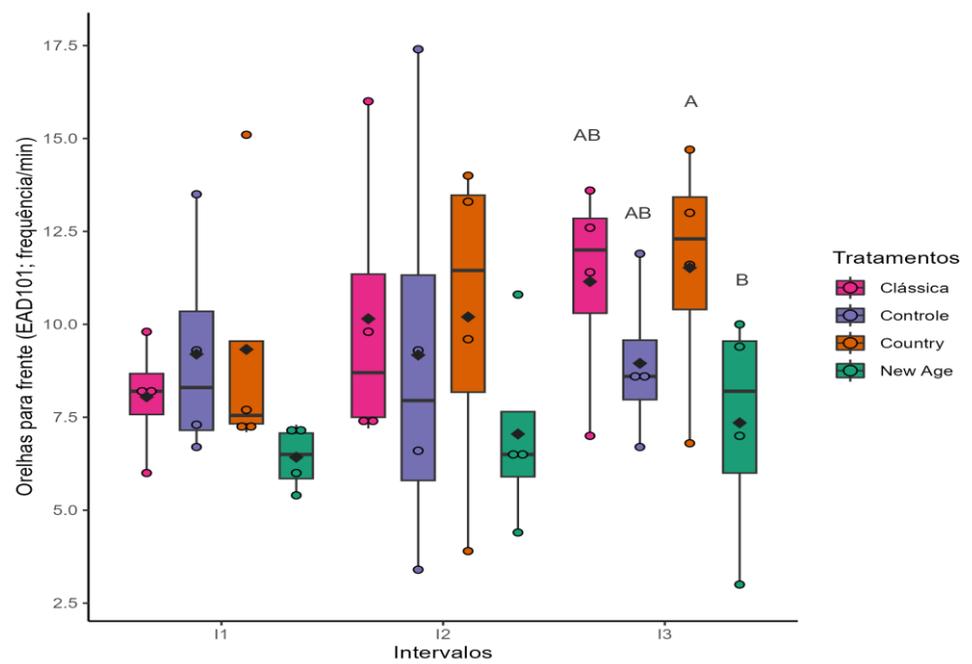
**Tabela 8.** Média e desvio-padrão ou mediana e amplitude interquartil da frequência por minuto de parâmetros faciais dos machos nos tratamentos controle, clássica, new age e country ao longo de três intervalos.

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 (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 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  $A > B$ .

1112  
1113  
1114  
1115



**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.

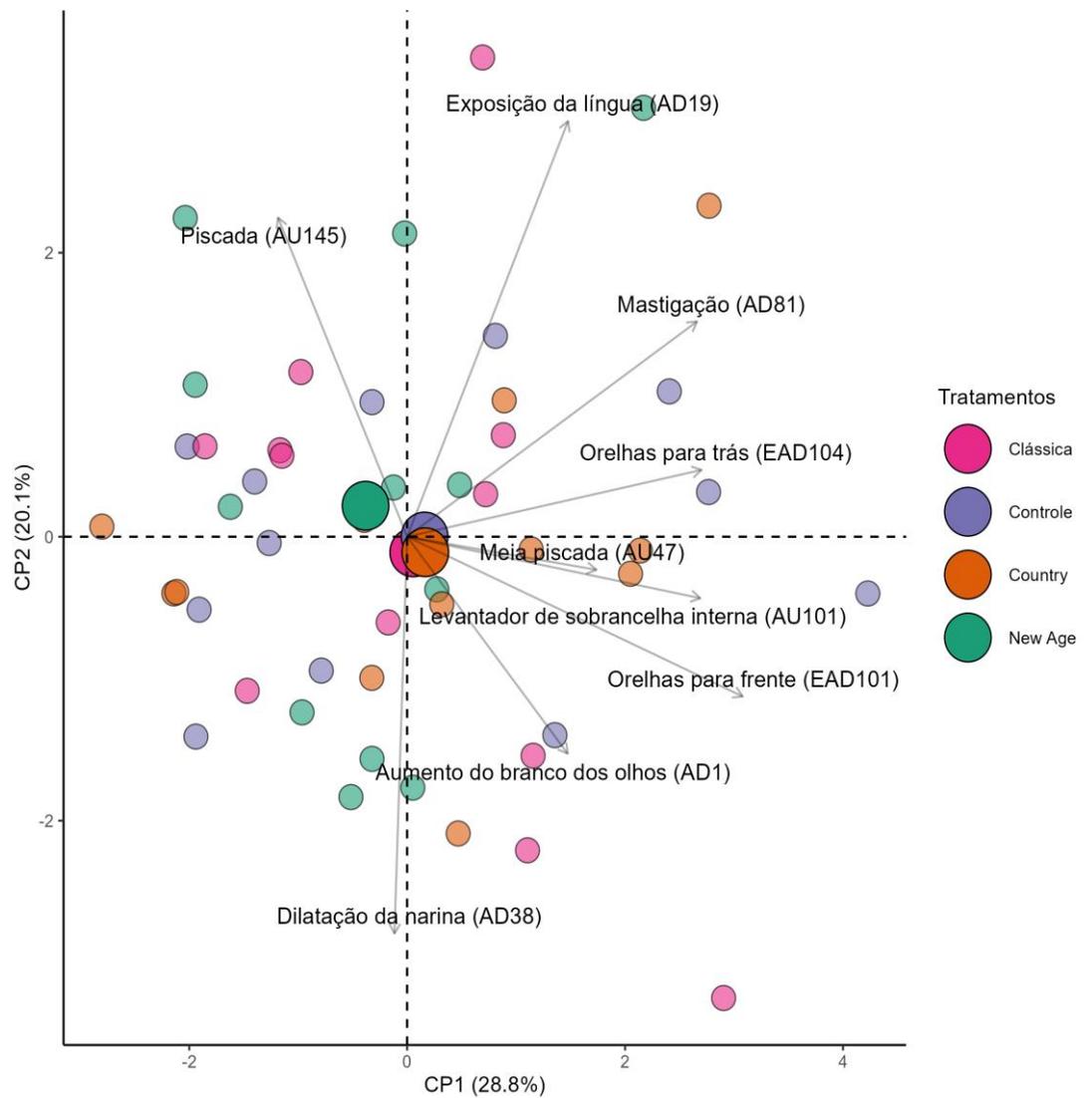
O PC1 explicou sozinho a maior parte (28,8%) da variação total dos dados, sendo que orelhas para frente (EAD101), orelhas para trás (EAD104), levantador da sobrancelha interna (AU101), meia piscada (AU47) e mastigação (AD81) mostraram uma associação positiva (valores de carga  $> 0,40$ ) com o PC1 (Tabela 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)

1178  
1179  
1180  
1181  
1182  
1183  
1184  
1185  
1186  
1187  
1188  
1189  
1190  
1191  
1192  
1193  
1194  
1195

#### 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<sup>2</sup> 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°C e 36°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.

1250 Durante a exposição à música country de Hank Williams Jr., [23] avaliaram pôneis  
1251 machos isolados socialmente dos coespecíficos, e relataram maior desprendimento de  
1252 tempo com alimentação, além de redução na ocorrência de relinchos quando comparado  
1253 ao período sem música. Porém, não se observou o mesmo comportamento fisiológico com  
1254 os machos no experimento II, em que os valores alcançados de frequência cardíaca varia-  
1255 ram de 36 a 43 bpm, próximo a faixa de valor basal para espécie, não diferindo entre os  
1256 tratamentos ( $p>0,05$ ).

1257 O nível basal da frequência respiratória de equinos, obtida em ambientes com tem-  
1258 peraturas elevadas, está entre 10 a 20 movimentos por minuto [18, 41]. No experimento I  
1259 e II, os resultados obtidos estavam próximos da faixa estabelecida como basal da espécie,  
1260 com valores entre 19 a 28 e 16 a 25 movimentos por minuto, respectivamente. Destaca-se  
1261 que os equinos da raça Pantaneira são animais adaptados e resistentes ao ambiente, em  
1262 que [19, 20] relataram que o passeio turístico, e a lida do gado a cavalo na região do Pan-  
1263 tanal não causou diferenças estatísticas nas frequências respiratória e cardíaca, antes e  
1264 após o exercício.

1265 No ponto inicial de coleta (P1), a frequência respiratória dos machos apresentou di-  
1266 ferença ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos, com menor valor para o controle. Esse efeito pode  
1267 estar relacionado ao “novo”, ou seja, ao fato de os animais terem sido expostos a estímulos  
1268 auditivos desconhecidos pela primeira vez. Apesar do efeito não se manter ao longo do  
1269 tempo, observou-se aumento nos movimentos respiratórios para o controle, e redução nos  
1270 tratamentos com música.

1271 A temperatura superficial é apoiada como um indiciador de bem-estar para o es-  
1272 tresse crônico, onde respostas agudas têm sido associadas a padrões de vasoconstrição e  
1273 vasodilatação [47]. Em pesquisa realizada com humanos saudáveis, [48] concluíram que  
1274 o estresse provocou alterações na temperatura da pele que diminuíra distalmente, mas  
1275 aumentou proximalmente, ou permanecem inalteradas, indicando que não há tradução  
1276 direta deste paradigma de hipertermia induzida por estresse.

1277 No experimento I, as fêmeas expostas à música clássica apresentaram elevação da  
1278 temperatura corporal ao longo do tempo, pressupondo uma redução de estresse durante  
1279 o manejo de contenção. Resposta encontrada também em estudo realizado com humanos  
1280 por [42], na qual a temperatura da superfície corporal aumentou ao ouvir música clássica,  
1281 com tendência de aumento de volume do fluxo sanguíneo, sugerindo potencial efeito cal-  
1282 mante.

1283 Houve aumento também da temperatura timpânica das fêmeas quando expostas à  
1284 música clássica, pressupondo relaxamento. Fato condizente com estudo de [49] que indi-  
1285 caram que durante a reação de defesa/alarme em equinos pode ocorrer vasoconstrição e  
1286 subsequente diminuição da temperatura auricular, e foi relatado com coelhos submetidos  
1287 a um procedimento de imobilização durante 15 minutos, onde a temperatura do pavilhão  
1288 da orelha interna diminuiu progressivamente decorrente do estresse [50].

1289 Desse modo, o monitoramento das mudanças na temperatura ocular tem sido utili-  
1290 zado para avaliar a resposta de equinos a situações potencialmente estressoras [51, 52, 53,  
1291 54]. Uma diminuição, seguida de aumento da temperatura ao redor dos olhos (carúncula  
1292 lacrimal) [10] está associado à resposta do sistema nervoso simpático [55] e parassimpático  
1293 [53, 56], respectivamente. A temperatura ocular dos machos no experimento II foi influ-  
1294 enciada ( $p<0,05$ ) pela música country e controle (sem música), que demonstraram eleva-  
1295 ção consistente ao longo do tempo marcado por um pico, e posterior diminuição.

1296 Em estudo, [57] verificaram aumento na temperatura ocular de cavalos durante o  
1297 manejo potencialmente aversivo de tosquia, em que a temperatura aumentou ao longo do  
1298 procedimento atingindo o pico ao final de 10 minutos, e imediatamente após o término  
1299 ocorreu a diminuição. Apesar disso, a temperatura ocular não atingiu os níveis basais,  
1300 possivelmente devido às consequências metabólicas da resposta ao estresse.

1301 Visando complementar os parâmetros fisiológicos foram analisadas expressões fa-  
1302 ciais selecionadas de acordo com resultados relevantes encontrados em trabalhos que ava-  
1303 liaram 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 gananhões 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 Rablim 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.; Hernandez, 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. *Ambiência em edificações rurais: conforto animal*. 2ª ed. Viçosa: UFFV. **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 raza 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.; Jégo, 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.

- 1469 31. Art, J. S.; Lekeux, P. Transient respiration locomotion decoupling in galloping Thoroughbreds. *Equine Vet J.* **1995**.
- 1470 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.
- 1471
- 1472 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.
- 1473
- 1474 34. Ekman, P. Facial action coding system (FACS). *A human face.* **2002**.
- 1475 35. Friedman, B. H.; Thayer, J. F. Anxiety and autonomic flexibility: a cardiovascular approach. *Biological psychology.* **1998**, *47*, 243-263.
- 1476
- 1477 36. McGreevy, P.; Christensen, J. W.; Von Borstel, U. K.; McLean, A. Equitation science. *John Wiley & Sons.* **2018**.
- 1478 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.
- 1479
- 1480 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.
- 1481
- 1482 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.
- 1483
- 1484 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.
- 1485
- 1486 41. Feitosa, F. L. F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.* São Paulo: Roca. **2004**, 807.
- 1487
- 1488 42. Ito, 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.
- 1489
- 1490 43. Ciborowska, P.; Michalczuk, M.; Bién, D. The effect of music on livestock: Cattle, poultry and pigs. *Animals.* **2021**, *11*, 3572.
- 1491 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.
- 1492
- 1493 45. Kemp, A. The Effects of Music on Dairy Production. *Murray State University Honors College: Murray, KY, USA.* **2019**.
- 1494 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.
- 1495
- 1496 47. König, U.; Borstel, E. K.; Visser, C. H. Indicators of stress in equitation. *Applied Animal Behaviour Science.* **2017**, *190*, 43-56.
- 1497 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.
- 1498
- 1499 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.
- 1500
- 1501 50. Luzzi, 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.
- 1502
- 1503 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**.
- 1504
- 1505 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.
- 1506
- 1507 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.
- 1508
- 1509 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.
- 1510
- 1511 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.
- 1512
- 1513 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.
- 1514
- 1515 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.
- 1516
- 1517 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.
- 1518
- 1519 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.
- 1520
- 1521 60. Lundblad, J.; Rashid, M.; Rhodin, M.; Andersen, P. H. Facial expressions of emotional stress in horses. *Biorxiv.* **2020**, *10*.
- 1522
- 1523 61. Rashid, M.; Silventoinen, A.; Glerup, 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*.
- 1524
- 1525 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**.
- 1526
- 1527 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.
- 1528
- 1529

- 1530 64. Lemasson, A.; Remeuf, K.; Trabalon, 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.