PAULO MOREIRA BOGOSSIAN

**Reatividade em equinos visualmente estimulados para a iniciação
de um movimento**

São Paulo

2020

PAULO MOREIRA BOGOSSIAN

**Reatividade em equinos visualmente estimulados para a iniciação
de um movimento**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3979 FMVZ	Bogossian, Paulo Moreira Reatividade em equinos visualmente estimulados para a iniciação de um movimento / Paulo Moreira Bogossian. – 2020. 75 f. : il. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2020. Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária. Área de concentração: Clínica Veterinária. Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes. 1. Transformação sensoriomotora. 2. Iniciação do movimento. 3. Comportamento. I. Título.
-----------------	---

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da influência de estímulos visuais na resposta ao exercício em esteira em equinos", protocolada sob o CEUA nº 1216230518 (ID 005087), sob a responsabilidade de **Carla Bargi Belli e equipe; Wilson Roberto Fernandes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 20/06/2018.

We certify that the proposal "Evaluation of the influence of visual stimuli on the exercise response in treadmill in horses", utilizing 10 Equines (males and females), protocol number CEUA 1216230518 (ID 005087), under the responsibility of **Carla Bargi Belli and team; Wilson Roberto Fernandes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 06/20/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2018** a **07/2019**

Área: **Clínica Médica Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **2 a 15 anos**

N: **10**

Linhagem: **Sem especificação**

Peso: **250 a 500 kg**

Local do experimento: LAMEC (Laboratório de Medicina Esportiva Equina) FMVZ/USP

São Paulo, 30 de julho de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BOGOSSIAN, Paulo Moreira

Título: **Reatividade em equinos visualmente estimulados para a iniciação de um movimento**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

À Patricia Bogossian, Andre Bogossian, Luisa Bogossian e Fernanda Chacar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e a toda minha família, em especial aos meus pais **Patrícia Moreira Bogossian** e **André de Freitas Bogossian**, à minha noiva **Fernanda Chicharo Chacar**, à minha irmã **Luisa Moreira Bogossian** e aos meus avós **Eunice Fadda de Oliveira Moreira**, **Odoneia de Freitas Bogossian**, **Onofre Guedes Moreira** e **Elias Bogossian** por todo apoio e dedicação.

Agradeço ao meu orientador, Professor Dr. **Wilson Roberto Fernandes**, que merece os créditos pela idealização deste projeto, por todo aprendizado, pelas oportunidades, pela confiança e pela amizade. Agradeço por esses quase 10 anos de convívio, com tantas conversas sobre cavalo, medicina esportiva e futebol.

Agradecimento especial aos funcionários do HOVET – FMVZ/USP: **Rosendo José Pires Neto**, **Marcos Roberto Rodrigues Alves**, **Gervasio Garcia da Silva** e **Felipe dos Santos Belau** por todos esse anos de amizade e apoio as atividades do LAMEQ.

Agradeço a **escola de Medicina Veterinária da USP**, aos professores do programa de pós-graduação em Clínica Veterinária, em especial à Professora Dra. **Alice Maria Della Libera**, Professora Dra. **Carla Bargi Belle**, Professora Dra. **Raquel Yvonne Baccarin** e Professora Dra. **Marcia Mery Kogika** pelas oportunidades, e pelo convívio sempre produtivo e agradável.

Agradeço aos meus colegas de pós-graduação **Ayrton Rodrigo Hilgert**, **Joice Fulber**, **Sarah Seidel**, **Fernanda Agreste**, **Bruna Stanigher**, **Mirian Zogaibe**, que colocaram todo o esforço e alegria neste trabalho. Obrigado pelo companheirismo em tantas coletas, endoscopias, cursos, simpósios e muitos outros momentos que passamos juntos!

Agradecimento especial as alunas de iniciação científica **Juliana Santos Pereira** e **Nathalia Felício da Silva** sem as quais não teria sido possível realizar este trabalho. Fico muito contente por termos construído um ambiente de trabalho divertido e produtivo!

Agradeço também aos amigos **Guilherme de la Penha Chiacchio Fernandes**, **Fabiano Pinheiro**, **Ronaldo Gargano** e **Jean Ramos** que sempre estão por perto com boas energias, ótimas ideias e novas aspirações científicas!

Ao professor Dr. **Luís Claudio Silva** e novamente a professora Dra. **Raquel Baccarin** por todo aprendizado dos últimos anos e pela gentileza de ceder os equinos que foram utilizados neste estudo. Agradeço ao professor Dr. **Pedro Vicente Michelotto Jr** e à professora **Paula Alessandra Di Filippo**, por tantas parcerias boas e pela amizade desses últimos anos.

À **Clara Mori** pelo convívio, coleguismo e apoio com as análises laboratoriais.

À **CAPES** pelo apoio a pesquisa.

À **Universidade Anhanguera de São Bernardo do Campo (UNIAN)** e todo corpo docente pela compreensão e companheirismo, que tornaram possível a conciliação dos horários de trabalho para a execução dos experimentos.

RESUMO

BOGOSSIAN, P.M. **Reatividade em equinos visualmente estimulados para a iniciação do movimento**. 2020. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

O comportamento de reatividade, definido como a capacidade de executar um plano motor a partir de um estímulo sensorial, tem sido investigado em diversas espécies de animais vertebrados e invertebrados. Há evidências de que sofisticados mecanismos de transformação sensoriomotora elevem a eficiência dos comportamentos de fuga e alimentação. Hipotetizou-se que os equinos são capazes de um acoplamento percepção-ação para iniciar o movimento. O objetivo do presente estudo é investigar o efeito do estímulo visual de reatividade sobre a resposta motora envolvida com a iniciação do movimento em equinos. Sete animais saudáveis foram selecionados para um estudo *crossover* 2x2, após um período de adaptação ao exercício em esteira. A intervenção consistiu de uma estimulação visual por vídeo, contendo imagens de um equino em pleno movimento de trote; este vídeo foi projetado a frente do elemento experimental posicionado na esteira, e comparado a um estímulo controle. Os animais foram então amostrados durante um teste físico de carga constante, em três tempos consecutivos: T0 ou baseline; T1 ou aquecimento; T2 ou manipulação do estímulo visual. Amostras de sangue foram coletadas para a determinação bioquímica das concentrações plasmáticas de glicose e lactato; as medidas de frequência cardíaca, bem como alguns aspectos quantitativos e qualitativos do comportamento foram avaliados. Os dados quantitativos foram analisados por meio do modelo linear com efeitos mistos, e os resultados qualitativos pelo teste de Fisher a 5%. A análise estatística revelou que a frequência cardíaca do grupo Teste ($122,60 \pm 14,60$ b.p.m.) foi maior do que a observada no grupo controle ($77,20 \pm 14,70$ b.p.m.) ($p < 0,05$); os níveis plasmáticos de lactato foram em média 2.53 mg/dl maior quando os equinos foram expostos ao estímulo de reatividade, e o ângulo da cabeça também elevou-se significativamente. Houve significativa associação entre a manipulação do estímulo visual, e a posição das orelhas; o teste de Fisher revelou que a prevalência do comportamento “orelhas para frente” foi maior do grupo Teste (100% - 7/7) quando comparado ao controle (14% - 1/7). Os resultados sugerem que os equinos são capazes de perceber os desafios ambientais, modificar o ajuste biomecânico genérico, e elevar a atividade motora.

Palavras-chave: transformação sensoriomotora; iniciação do movimento; comportamento

ABSTRACT

BOGOSSIAN, P.M. **Reactivity in exercising horses visually stimulated to movement initiation.** 2020. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Reactivity behaviors is the ability to bind environmental stimuli and body movement; it has been investigated in a wide range of species, because several authors addressed that animals are able to perform sophisticated sensory-motor transformations, in order to improve the efficiency of escape and feeding behaviors. We hypothesized that horses are capable of perception-action coupling to initiate the movement. Therefore, the aim of this study is to investigate the effect of a reactivity-like visual stimulus on the motor response related to movement initiation. Seven horses were selected to a 2x2 crossover trial following treadmill familiarization. Video images of a trotting horse were displayed on the wall in front of the experimental unit, which was positioned in the treadmill; it was further compared with a control visual stimulus. The horses were sampled during a constant load exercise test: at rest (T0); during warm-up (T1); during visual stimulation (T2). Blood samples were collected in order to quantify plasma lactate and glucose concentration; heart rate, as well as behavioral markers were assessed. Quantitative data were analyzed through the linear mixed effect models, and qualitative analysis was based on Fisher's exact test. Briefly, statistics showed the effect of reactivity-like stimulus on plasma lactate; heart rate and behavior. Mixed effect model analysis revealed that the heart rate of the Test group (122.60 ± 14.60 b.p.m.) was higher than that observed in the control group (77.20 ± 14.70 b.p.m.) ($p < 0.05$); plasma lactate showed higher level during exposure to the reactivity-like stimulus (average 2,63 mg/dl), and head angle were also higher in the test group when compared to the control. There was a significant association between the manipulation of the visual stimulus and the position of the ears; Fisher's test revealed that the prevalence of "ears forward" behavior was higher in the Test group (100% - 7/7) when compared to the Control group (14% - 1/7). It may suggest that horses are able to perceive environmental challenges, to perform a general biomechanical adjustment and increase motor activity.

Keywords: sensory-motor transformation; initiation; behavior

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo conceitual, representativa das etapas envolvidas no comportamento de fuga.....	21
Figura 2 - Desenho esquemático do posicionamento do elemento experimental na esteira no momento em que o estímulo visual foi projetado	29
Figura 3 - Fluxograma consorte representativo das fases de recrutamento e randomização de equinos em desenho <i>crossover</i>	31
Figura 4 - Primeira exposição ao estímulo visual de reatividade, aplicado sobre o animal Darco	33
Figura 5 - Representação do protocolo do teste de carga constante com inclinação nula utilizado em estudo <i>crossover</i> 2x2	34
Figura 6 - Imagem representativa do vídeo utilizado como estímulo visual de reatividade.....	35
Figura 7 - Imagem de uma pista de corrida utilizado como estímulo visual controle em um ensaio clínico <i>crossover</i> 2x2..	36
Figura 8 - Posicionamento da fita Polar® para mensuração da frequência cardíaca em equinos.....	37
Figura 9 - Mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça em relação ao eixo vertical de um equinos exercitando-se em esteira rolante de alta velocidade.....	39
Figura 10 - Correlação entre as variáveis glicose plasmática (glic), lactato plasmático (lack), e frequência cardíaca (FC) obtidos de uma amostra de 7 equinos submetidos a teste de carga constante em esteira rolante.....	42

Figura 11 - Frequência cardíaca dos equinos submetidos a estímulo visual de movimento *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações do modelo linear para os grupos Teste e Controle, respectivamente.....44

Figura 12 - Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, considerando-se a frequência cardíaca como variável dependente. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.....45

Figura 13 - Log das concentrações de lactato plasmático (mg/dl) dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos teste e controle, respectivamente.....46

Figura 14 - Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável lactato plasmático. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.....47

Figura 15 - Representação por meio de *boxplot* da variação das medidas do log da concentração de lactato plasmático (mg/dl) em equinos submetidos a teste físico de carga constante em esteira, ao longo dos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual” (T2).....47

Figura 16 - Glicose plasmática (mg/dl) dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos teste e controle, respectivamente.....48

Figura 17 - Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável glicose plasmática. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.49

Figura 18 - Representação por meio de *boxplot* da variação dos níveis plasmáticos de glicose (mg/dl) de equinos, durante teste físico de carga constante, nos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual (T3).49

Figura 19 - Ângulo da cabeça dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos Teste e Controle, respectivamente.....50

Figura 20 - Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável ângulo da cabeça. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.....51

Figura 21 - Imagem da mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça na égua Clarice, quando exposta ao estímulo visual controle, durante teste físico de carga constante em esteira.....51

Figura 22 - Imagem da mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça na égua Clarice, quando exposta ao estímulo visual de reatividade, durante teste físico de carga constante em esteira.....51

Figura 23 - Representação por meio de *boxplot* da variação do ângulo do eixo longitudinal da cabeça de equinos, durante teste físico de carga constante, nos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual (T3).....53

Figura 24 - Prevalência do comportamento “atrasar”, exibido pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante o aquecimento de teste físico de carga constante em esteira.....56

Figura 25 - Prevalência do comportamento “fixar orelhas cranialmente”, exibido pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante a manipulação do estímulo visual.....58

Figura 26 - Efeito do período de observação sobre os níveis de lactato plasmático; os números 1 e 2 correspondem ao primeiro e ao segundo período de observação, respectivamente.....59

Figura 27 - Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), não ajustado quanto ao período de observação.....60

Figura 28 - Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), ajustado quanto ao período de observação.....61

Figura 29 - Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), incluindo o fator “período de observação” como efeito fixo.....61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de animais e prevalência dos comportamentos exibidos pelos equinos submetidos a estímulo visual de movimento *versus* controle durante o aquecimento.....55

Tabela 2 - Número de animais e prevalência dos comportamentos exibidos pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante a manipulação do estímulo visual.57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Inventário das classes comportamentais do equinos a estímulo visual de movimento <i>versus</i> controle.....	43
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	REATIVIDADE.....	19
2.2	MOVIMENTO COLETIVO.....	23
2.3	TÓPICOS EM FISIOLOGIA DO ESFORÇO.....	25
3.	HIPÓTESE.....	27
4.	OBJETIVO.....	28
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
5.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
5.2	SELEÇÃO DOS ANIMAIS.....	32
5.3	FAMILIARIZAÇÃO.....	33
5.4	ESTÍMULO VISUAL.....	35
5.5	FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	37
5.6	DETERMINAÇÃO PLASMÁTICA DE LACTATO E GLICOSE.....	38
5.7	COMPORTAMENTO.....	38
5.7.1	ÂNGULO DA CABEÇA.....	39
5.7.2	DETERMINAÇÃO DAS CLASSES COMPORTAMENTAIS.....	39
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
6	RESULTADOS	42
6.1	FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	44
6.2	LACTATO PLASMÁTICO.....	46
5.3	GLICOSE PLASMÁTICA.....	48
6.4	COMPORTAMENTO.....	50
6.4.1	ÂNGULO DA CABEÇA.....	50
6.4.2	PREVALÊNCIA DAS CLASSES COMPORTAMENTAIS.....	55
6.5	EFEITO DO PERÍODO DE OBSERVAÇÃO E CARRYOVER.....	59
7	DISCUSSÃO.....	62
8	CONCLUSÃO.....	69

1 INTRODUÇÃO

A capacidade de manifestar comportamentos reativos é uma característica importante para a sobrevivência dos herbívoros de grande porte, uma vez que estão inseridos em ambientes com variável grau de ameaça. Os equinos, bem como outras espécies historicamente expostas à predação frequentemente exibem comportamentos evasivos, que lhes permite antecipar-se a situações de risco (BULENS et al., 2015).

As situações de risco são provavelmente “gatilhos” naturais para a incitação do movimento em equinos de vida livre; esse fenômeno de “pré-partida” parece resultar de uma sofisticada interação entre estímulos sensoriais e motores mediada por regiões específicas do SNC como os gânglios da base (SPIRDUSO et al., 1985). Estudos recente tem demonstrado que mesmo em invertebrados a reação de fuga é complexa, e requer a elaboração rápida de um plano motor a partir de estímulos visuais (CARD; DICKINSON, 2008).

Pode-se hipotetizar que a reatividade enquanto característica, também sofreu uma pressão de seleção, uma vez que é indispensável ao comportamento de fuga, e portanto evoluiu conjuntamente com outras características físicas dos equinos. À exemplo dos atributos fisiológicos e biomecânicos que permitem que esse animais mantenham-se em exercício por períodos prolongados, a reatividade também evoluiu como uma série de adaptações neurológicas que permite que o animal coloque-se em movimento rapidamente. Estudos em fisiologia do exercício indicam que o equinos são biologicamente equipados para um *fast starting*, uma vez que apresentam baixa inércia na cinética do VO_2 , e notável capacidade neuromuscular (EATON et al., 1995).

Uma extensa literatura descreve a relação entre características fisiológicas, e biomecânicas com o desempenho, entretanto há escassa informação acerca dos aspectos comportamentais relacionados a performance dos equinos, como a capacidade de reação e antecipação aos estímulos ambientais. A capacidade de antecipação é uma habilidade importante para os equinos envolvidos em diversas modalidades equestres, pois permite que estes planejem e executem uma determinada tarefa motora com maior precisão e rapidez.

Estudos em humanos tem utilizado a realidade virtual para maximizar aspectos do treinamento de remadores como o aprendizado do ritmo, e a manipulação precisa das estratégias de *pacing* (HOFFMANN et al., 2014). Tais estudos utilizam a projeção de um “avatar” para estimular a elaboração precisa das estratégias motoras dos atletas.

Hipotetizou-se no presente estudo que um estímulo visual promotor de movimento pode deflagrar uma resposta motora e desta forma influenciar a intensidade do exercício em equinos. Diante disso os autores se dedicaram a responder a seguinte pergunta: é possível modular a resposta motora através de estímulos sensoriais nos cavalos?

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REATIVIDADE

Um dos objetivos da neurociência é estabelecer as bases neurológicas de comportamentos tipicamente observados nos animais e nos seres humanos. O estudo da reatividade em seres humanos é extenso, sofisticado e multidisciplinar, e adiciona-se a um robusto *background* estabelecido para animais invertebrados e vertebrados.

Em 1985, a capacidade de reação, definida como a velocidade máxima que o animal atinge após receber um estímulo ambiental, foi investigada por Spirduso e colaboradores. Os autores identificaram que esse comportamento tem uma relação importante com a integridade do córtex nigroestriatal (SPIRDUSO et al., 1985). Em 1988 o tempo de reação comportamental foi utilizado por Helmholtz como uma medida da duração dos processos mentais em seres humanos, e concluiu-se que tratava-se de um fenômeno notadamente variável; concomitantemente neurocientistas identificaram circuitos neurais relacionados à iniciação do movimento (BECKER, 1989).

Segundo alguns modelos matemáticos, desenvolvidos para explicar a considerável variabilidade interindividual no tempo de reação, observou-se que um sinal representativo do processo decisório amplifica-se com o tempo de estimulação, e ao atingir um determinado limiar, uma resposta motora é deflagrada. Posto que o processo decisório, aparenta ter um caráter “cumulativo”, podemos nos perguntar o seguinte: quais seriam as fontes responsáveis pelo variável *delay* existente entre a captação de um estímulo sensorial e a resposta motora voluntária?

Em 1996, Hanes e Schall compararam dois modelos matemáticos explicativos do tempo de reação, com objetivo de aprimorar os conhecimentos acerca das bases neurais da incitação do movimento. Os autores posicionaram microelétrodos na área frontal ocular de primatas (região do córtex frontal que exerce uma função importante nos movimentos voluntário dos olhos), e concluíram: “a irreduzível variabilidade do tempo de reação voluntária é consequência de uma forma particular de variabilidade estocástica nos circuitos neurais (HANES; SCHALL, 1996)”.

No ano seguinte o tema despertou o interesse de cientistas do esporte, e o tempo de reação foi investigado em atletas de *baseball*. Neste estudo, hipotetizou-se que os atletas experientes seriam capazes de captar a informação visual mais rapidamente que os atletas iniciantes, e portanto teriam mais tempo para planejar o movimento de “pegada” da bola. As conclusões do estudo refutaram esta hipótese, entretanto observou-se que os atletas experientes foram mais hábeis em iniciar o movimento na direção correta (OUDEJANS; MICHAELS; BARKER, 1997).

A gênese do processo decisório tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, que ressaltam a importância dos movimentos oculares e do processamento visual dos estímulos nos instantes que antecedem o movimento. A região da fóvea de maior acuidade visual é movida constantemente por meio da contração voluntária de músculos associados ao globo ocular. Discretos e precisos movimentos oculares são essenciais para otimizar a extração da informação visual; há evidências de que o tempo de reação desses músculos pode variar de acordo com a previsibilidade do estímulo ambiental. Alvos de maior previsibilidade estão associados a menor tempo de reação. Em 1998, Dorris e Munos investigaram a forma com que os sinais neurais relacionados à preparação motora podem ser modulados por aspectos relacionados ao contexto, de forma que resulte em uma manifestação comportamental eficiente. Os autores utilizaram sistemas robustos de aquisição de dados em tempo real para avaliar a atividade neural de macacos visualmente estimulados, e observaram que existe uma atividade neural preparatória, que precede a apresentação de alvos visuais. Esta atividade mostrou-se dependente do contexto e da experiência (DORRIS; MUNOZ, 1998).

A atividade neural subjacente, interpretada como uma forma de antecipação dependente da experiência pode ser muito importante quando a reatividade tem objetivo de fuga. Evans e colaboradores (2019) postularam que o comportamento de fuga ocorre basicamente em três etapas: detecção da ameaça; iniciação da fuga; execução da fuga (Figura 1) (EVANS et al., 2019). Segundo os autores a detecção da ameaça é uma operação classificatória, e basicamente sensorial (tamanho, forma, velocidade e odor). Um aspecto importante destacado pelos autores é que o acoplamento resposta-estímulo é flexível, e depende de um limiar ajustado ao risco de predação. Ou seja, o animal pode suprimir a resposta de fuga se apresentado repetidas vezes a uma ameaça que apesar de “natural”, não gera efeitos negativos para o animal (Figura1). Além de ilustrar as diferentes posturas exibidas durante a

manifestação do comportamento de fuga, a figura a seguir indica que a cada estímulo ambiental o conhecimento prévio é atualizado, e uma nova classificação de risco é gerada.

Figura 1. Linha do tempo conceitual, representativa das etapas envolvidas no comportamento de fuga.

Fonte: (EVANS et al., 2019)

Recentemente um estudo destacou a importância do controle da iniciação do movimento no desenvolvimento do equilíbrio. Ehrlich e Schoppik observaram que a habilidade para movimentar-se mesmo com uma instabilidade corporal, como no caso dos estágios larvais do peixe paulistinha é um aspecto fundamental para o desenvolvimento do equilíbrio. Neste estágio as forças gravitacionais e o empuxo associado à presença de ar na bexiga natatória incidem em regiões diferentes do corpo deste animal, gerando uma instabilidade natural. Intrigantemente as larvas de *zebrafish* controlam a iniciação do movimento, nadando preferencialmente quando em situação de instabilidade, e desta forma recuperam a postura preferida (EHRlich; SCHOPPIK, 2017).

O controle da iniciação do movimento requer um sofisticado mecanismo de integração sensorial e motora, visto mesmo nos animais invertebrados. Card e Dickinson (2008) investigaram o salto realizado pela mosca *Drosophila* quando iniciam o voo em resposta a um estímulo de ameaça. Os autores reportaram que o tempo médio entre o início do estímulo visual e o início do salto foi de aproximadamente 200 milissegundos, e a direção do salto mostrou-se dependente

da direção com que a ameaça se aproximou da mosca. Concluiu-se que as moscas apresentam uma postura preparatória, e direcionam o salto de modo a afastar-se da ameaça, mesmo quando esta se aproxima pela frente (CARD; DICKINSON, 2008).

2.2 MOVIMENTO COLETIVO

Em animais reconhecidamente gregários o movimento dos pares pode ser um potente estímulo para a iniciação do movimento, entretanto este processo envolve padrões neurais mais complexos; combinações de fatores internos e ambientais, memória e um significativo componente social. Alguns tipos principais de movimento coletivo foram descritos por Woolf e coautores (1970), sob a perspectiva ecológica: movimentos em larga escala direcionados a locais específicos durante migração sazonal; retorno aos locais de origem com finalidade reprodutiva; movimentos em direção a novas áreas funcionais (relacionado ao consumo de água), e movimentos em pequena escala dentro de uma mesma área funcional com objetivo de alimentação (WOOLF; O'SHEA; GILBERT, 1970).

Em 1959, Jonh Ernlen e George Schaller desenvolveram uma série de estudos sobre o comportamento do gorila das montanhas. O resultado de detalhadas observações feitas no Congo, de aproximadamente 200 animais ofereceram importante suporte científico sobre o comportamento coletivo dos mamíferos, e sobre curiosas particularidades dos gorilas. Os autores observaram uma estrutura hierárquica de dominância dos machos em relação as fêmeas; observou-se que, por meio de suas ações, o macho de maior nível hierárquico, determina o movimento do grupo como um todo. Os autores reportaram também, diversos modos de comunicação, dentre os quais, a forma como os animais se olham aparenta ter grande poder comunicativo; o olhar intenso e direto pode significar agressão, e deflagrar comportamentos evasivos (SCHALLER, 1964).

Bourjade e colaboradores (2009), descreveram dois padrões de movimento coletivo em tropas de cavalos de Przewalski: movimento simples e movimento múltiplo, que distinguem-se quanto a presença de paradas coletivas, distância percorrida e contexto. O período preliminar, que precede ambos os tipos de movimento, envolve a interação de diversos membros do grupo, que participam ativamente do processo decisório (BOURJADE et al., 2009). A frequência com que um animal inicia o movimento em grupo tem sido associada com a frequência de interações agonistas ou afáveis com outros membros do grupo (KRUEGER et al., 2014).

Movimentos longos, que demandam maior gasto energético parecem requerer um processo decisório mais sofisticado, isto é, a maior parte dos indivíduos precisa decidir pelo movimento. A percepção de que o processo decisório de iniciação de movimento em situações coletivas é socialmente compartilhado tem sido amplamente discutido (HOFFMANN, 1985; BOURJADE et al., 2009), e novos aspectos, tais como a personalidade e o vínculo entre indivíduos de um mesmo grupo tem sido investigados (BRIARD; DORN; PETIT, 2015).

Em alguns casos, a iniciação do movimento pode não ser acompanhada pelos demais integrantes do grupo, e então a tropa pode se dividir, sugerindo que a iniciação bem sucedida do movimento requer determinado grau de sincronização entre os elementos do grupo (PILLOT; DENEUBOURG, 2010). Alguns modelos matemáticos demonstraram que a sincronização de dois animais “vizinhos” é suficiente para iniciar o movimento do grupo. Em um estudo conduzido por Krueger e colaboradores (2014), observou-se que o movimento de apenas um animal pode promover o movimento de alguns ou de todos os indivíduos do grupo. Os autores observaram também que os equinos de maior ranking social foram seguidos mais frequentemente do que aqueles de menor ranking (KRUEGER et al., 2014).

Os elementos discutidos acima são considerados essenciais para a manutenção da coesão do grupo; em primatas, os animais que iniciam o movimento normalmente exibem comportamentos de recrutamento e monitoramento, classificados como manifestações de liderança ativa. Os comportamentos de recrutamento e monitoramento podem ser pequenas pausas, ou simplesmente olhar para trás; em um estudo com o macaco-de-gibraltar (*Macaca sylvanus*) tais comportamentos mostraram-se preditivos de movimentos coletivos eficientes (SELTMANN et al., 2016).

2.3 TÓPICOS EM FISIOLOGIA DO ESFORÇO

A história da fisiologia do exercício dos equinos nos tempos modernos remonta algumas investigações simples e informais sobre o comportamento e a biomecânica de cavalos de salto, realizadas na Itália durante o início do século XX. Federico Caprilli (1868 – 1907) foi um cavaleiro italiano que revolucionou a equitação moderna. Segundo relatos, antes de Caprilli, os equinos eram montados com “barbaridade”; os cavaleiros da época acreditavam que era preciso “levantar o cavalo pelas rédeas” durante o salto, afim de prevenir o choque dos membros anteriores com o obstáculo (CAPRILLI, 2014). Em outras palavras, a comunidade equestre da época assumia que os equinos eram aptos a mínima percepção do obstáculo (altura, distância, profundidade), e incapazes de ultrapassá-los utilizando as suas próprias estratégia sensoriomotora.

A partir do advento do método Caprilli, a ideia de que o cavalo é capaz de autorregular seu equilíbrio e interagir de forma inteligente com o ambiente, cresceu entre os cavaleiros e treinadores, e logo gerou mudanças nos métodos de treinamento. Com o desenvolvimento da indústria equestre, houve notável interesse na compreensão dos aspectos metabólicos e biomecânicos do cavalo atleta (MARLIN, 2015), entretanto as habilidades sensoriais e motoras do cavalo de esporte, anteriormente investigadas por Caprilli, permaneceram pouco exploradas. Um dos assuntos amplamente explorados pelos cientistas foi a fisiologia do sistema respiratório, e a sua interface com o desempenho esportivo.

Nos equinos atletas, o sistema respiratório parece oferecer um limite fisiológico à entrega de oxigênio nas fibras musculares; isto ocorre porque o gasto energético dos músculos respiratórios (em especial o diafragma) eleva-se exponencialmente com o aumento da intensidade do exercício, e suspeita-se haver um ponto crítico ventilatório, a partir do qual a contração diafragmática não gera saldo adicional de ATP (VAN ERCK-WESTERGREN; FRANKLIN; BAYLY, 2013). O ponto crítico ventilatório pode logicamente preceder a redução da atividade muscular voluntária que classificamos como exaustão. Em cavalos altamente treinados comumente observa-se hipercapnia durante exercício de alta intensidade, o que constitui prova adicional de que o componente ventilatório atua sob forte demanda à

medida que o animal aumenta o seu ritmo de trabalho (EVANS, 2007; MELLOR; BEAUSOLEIL, 2017).

O elevado gasto energético relacionado com a ventilação pode ser explicado por uma série de fatores anatômicos e fisiológicos que elevam a resistência das vias aéreas anteriores dos equinos (ex. respiração exclusivamente nasal) (JANICEK; KETZNER, 2008). O sistema respiratório dos equinos tem uma relação importante também com a locomoção; há evidências de que os cavalos são capazes de sincronizar os movimentos respiratórios com os ciclos de locomoção, afim de reduzir o custo energético. Este fenômeno, denominado acoplamento ventilação-locomoção permite que as vísceras abdominais atuem como um “pistão” que exerce pressão variável sobre o diafragma de acordo com a fase do galope que o animal se encontra (ART et al., 1990; BUTLER et al., 1993).

Recentemente, pesquisadores engajados na chamada ciência da equitação, ressaltaram um outro aspecto importante para o sistema respiratório: a flexão crânio-cervical. Alguns estudos tem observado que a exagerada flexão da cabeça induzida pelo cavaleiro durante o exercício pode reduzir drasticamente o diâmetro da nasofaringe, e portanto elevar a resistência das vias aéreas anteriores (ALLEN et al., 2011; PIERARD et al., 2015; MELLOR; BEAUSOLEIL, 2017). As pesquisas que entrelaçam questões atuais da equitação, com fisiologia e bem-estar do cavalo montado tem sido mundialmente aceitas, e institucionalmente amparadas por uma organização denominada ISES (*International Society of Equitation Science*). Esta instituição, chama a atenção para a necessidade da condução de estudos que envolvam a teoria do aprendizado, o bem-estar, e a cognição dos cavalos (MCLEAN; MCGREEVY, 2010; HALL et al., 2013; MCBRIDE et al., 2017).

3. HIPÓTESE

A hipótese do presente estudo é que o estímulo visual promove resposta motora envolvida com a intensificação do movimento e competitividade em equinos.

4. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é investigar o efeito do estímulo visual de reatividade sobre a resposta motora de equinos durante o exercício.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Alguns termos serão aqui definidos afim de facilitar o entendimento dos métodos descritos abaixo. O termo “Grupo Teste” refere-se à aplicação do estímulo visual de reatividade, constituído pela projeção de imagens de um equino em pleno movimento de trote. O termo “Grupo Controle” refere-se à aplicação do estímulo visual controle, em que a imagem de uma pista foi projetada a frente do elemento experimental. Ambos os estímulos (reatividade e controle) foram aplicados com os animais posicionados em esteira, ao trote, após cumprir um protocolo de aquecimento (Figura 2).

Figura 2. Desenho esquemático do posicionamento do elemento experimental na esteira no momento em que o estímulo visual foi projetado.

Nota: 1: local de projeção das imagens; 2: provável campo de visualização binocular dos equinos; 3: esteira rolante de alta velocidade.

Fonte: BOGOSSIAN (2020).

5.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi delineado como um ensaio clínico randomizado *crossover* (2x2), com medidas repetidas. O estímulo visual de reatividade (Grupo Teste) foi comparado ao estímulo controle (Grupo Controle), durante testes físicos de carga constante em esteira. Os animais foram amostrados em repouso (Tempo 0 ou *baseline*), durante o aquecimento (Tempo 1), e durante a manipulação do estímulo visual (Tempo 2).

Conforme as recomendações estabelecidas para desenhos experimentais *crossover*, duas sequências principais foram definidas para a aplicação dos tratamentos: estímulo de reatividade seguido pelo estímulo controle (sequência TC); estímulo controle seguido pelo estímulo de reatividade (sequência CT). Isto posto, às unidades experimentais foram dadas as mesmas chances de ingressar no estudo pelas sequências CT e TC. O período mínimo de sete dias foi utilizado como padrão para *washout*, e possíveis efeitos do período em que o tratamento foi aplicado e também os efeitos do tipo *carryover* foram avaliados. Conforme ilustrado na figura 3, o experimento contou com duas sequências (“CT” e “TC”) e dois períodos de observação (“período 1” e “período 2”) (Figura 3).

Figura 3. Fluxograma consorte representativo das fases de recrutamento e randomização de equinos em desenho *crossover*.

Fonte: BOGOSSIAN (2010).

O desenho *crossover* foi escolhido em substituição ao desenho em paralelo, pois a resposta ao estímulo visual mostrou considerável variação interindividual no atinente ao comportamento. Tal variação foi empiricamente observada durante a familiarização dos animais ao vídeo, e durante a aplicação de testes de atenção visual, em que notou-se que a resposta comportamental dependeu de características inerentes aos animais, tais como temperamento, concentração e experiência prévia. No QR code abaixo há um exemplo dessas observações preliminares sobre a atenção visual, mencionada anteriormente.

5.2. SELEÇÃO DOS ANIMAIS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob o protocolo nº 1216230518.

Inicialmente foram recrutados 10 equinos saudáveis, tolerantes ao exercício e com idade entre 3 e 7 anos, dos quais sete encontravam-se alojados nas dependências da FMVZ/USP, e a sua utilização foi consentida pelos docentes responsáveis, e três foram gentilmente cedidos por proprietários. A elegibilidade desses 10 animais foi avaliada por meio da anamnese, exame físico geral e exame da claudicação. Os responsáveis foram arguidos quanto ao histórico clínico, antecedentes mórbidos e quanto a presença de intolerância ao exercício ou ruído respiratório. Além disso, os animais foram examinados ao trote quanto a presença de claudicação, e considerados elegíveis aqueles que apresentaram locomoção normal.

Desta amostra inicialmente acessada quanto a elegibilidade, obteve-se os seguintes resultados: sete animais atenderam aos critérios de inclusão; um animal foi excluído por apresentar dermovilite exsudativa; um animal foi retirado pelo proprietário por motivos desconhecidos; e um outro não completou os dois períodos experimentais.

A amostra de 7 equinos das raças Puro-Sangue-Lusitano (4/7), SRD (1/7) e Puro-Sangue-Árabe (2/7) com idade de 4 ± 1 anos e peso de $431,4 \pm 86,3$ kg foi considerada elegível para a fase experimental. Estes animais foram mantidos em baias individuais (3mx3mx3m) no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde receberam água *ad libium*, feno *Coast Cross* e concentrado comercial (0,5 kg/dia).

5.3 FAMILIARIZAÇÃO

A adaptação à locomoção em esteira seguiu um procedimento padrão, desenvolvido pelos integrantes do Laboratório de Medicina Esportiva Equina da FMVZ/USP (LAMEQ/FMVZ/USP). Neste procedimento, os animais aprendem a locomover-se na esteira com calma, ritmo e retidão. Fez-se necessário também a adaptação à luz emitida pelo projetor, e ao movimento gerado pelos vídeos projetados na parede. A adaptação a luz foi longa (3 meses) e teve o objetivo de gerar habituação ao estímulo luminoso, enquanto que a adaptação ao vídeo utilizado como promotor de movimento foi curta (2 dias), com o objetivo de prevenir a acomodação ao estímulo de reatividade (Figura 4). A equipe monitorou a frequência cardíaca dos animais durante a familiarização.

Figura 4. Primeira exposição ao estímulo visual de reatividade, aplicado sobre o animal Darco.

Uma vez cumprida a etapa de adaptação à locomoção em esteira e ao estímulo luminoso emitido pelo projetor, procedeu-se a familiarização ao protocolo de exercício utilizado. A familiarização teve como principal objetivo minimizar o efeito do aprendizado da tarefa, que potencialmente influenciaria os resultados obtidos no período 2 em relação ao período 1. Fez-se necessário então, repetir o protocolo de exercício convencionado para o teste físico sucessivas vezes, até que os principais parâmetros físicos se estabilizassem. A estabilização das medidas de frequência cardíaca foi rotineiramente avaliada e utilizada como principal indicador de familiarização.

Após a familiarização ao protocolo do teste, procedeu-se a execução dos mesmos, que foram delineados como testes de carga constante (única velocidade), com inclinação nula. O motivo pelo qual optou-se por um teste de carga constante foi permitir que o cavalo utilizasse uma “reserva de intensidade”, e pudesse assim, manifestar livremente uma resposta motora ao estímulo visual. Assumiu-se portanto, que em testes de esforço tradicionais (escalonados incrementais), a alta demanda física pudesse sobrepujar um estímulo ambiental de movimento como o que foi recriado no presente estudo.

O teste físico apresentou o seguinte protocolo: aquecimento - cinco minutos de passo a 1,8 m/s, seguido por 5 minutos de trote a 3,2 m/s; intervalo – um minuto de passo a 1,8 m/s; manipulação do estímulo visual – um minuto e quarenta e cinco segundos de trote a 3,2 m/s (Figura 5).

Figura 5. Representação do protocolo do teste de carga constante com inclinação nula utilizado em estudo crossover 2x2.

Fonte: BOGOSSIAN (2020).

5.4 ESTÍMULO VISUAL

O estímulo visual de reatividade consistiu de um vídeo contendo imagens de um cavalo exercitando-se em alta velocidade (Figura 6). Este vídeo, projetado em uma parede branca lisa a frente do animal, teve o objetivo de simular uma situação comumente observada na natureza e também nas competições equestres, em que o movimento de um animal serve de estímulo para o movimento dos demais. O vídeo transmitiu continuamente a movimentação do cavalo que atuou como “guia” para o elemento experimental posicionado na esteira. Não houve corte ou emissão de estímulo sonoro durante a projeção das imagens. A imagem estática de uma pista de turfe foi utilizada como estímulo visual controle (Figuras 7).

Figura 6. Imagem representativa do vídeo utilizado como estímulo visual de reatividade.

Fonte: Laboratório de Medicina Esportiva Equina da FMVZ/USP

Figura 7. Imagem de uma pista de corrida utilizado como estímulo visual controle em um ensaio clínico crossover 2x2.

Fonte: Laboratório de Medicina Esportiva Equina da FMVZ/USP

5.5 FREQUÊNCIA CARDÍACA

As mensurações de frequência cardíaca (FC) dos animais utilizados neste estudo foram feitas em repouso, e durante o exercício nos tempos “aquecimento” e “manipulação do estímulo visual”. O monitor cardíaco Polar RS800 (POLAR ELECTRO®, Suíça) foi utilizado para registrar continuamente as medidas de frequência cardíaca, que foram sumarizadas para cada um dos tempos de observação e posteriormente anotadas em planilhas.

O monitor cardíaco Polar é composto por um relógio que processa, registra e armazena as informações coletadas por uma fita de captação de estímulos elétricos do tórax de equinos. Posicionou-se a fita de monitoramento na região axilar dos animais antes da realização dos testes, e uma solução contendo água e sabão foi aplicada sobre a região, afim de aumentar o contato com a pele do animal (Figura 8). De forma geral o procedimento foi bem tolerado pelos animais, sendo utilizado um período de adaptação de dois dias.

Figura 8. Posicionamento da fita Polar® para mensuração da frequência cardíaca em equinos.

Fonte: BOGOSSIAN (2020)

5.6. DETERMINAÇÃO PLASMÁTICA DE LACTATO E GLICOSE

Amostras de sangue das veias jugulares externas, foram obtidas de modo asséptico e acondicionadas em frascos com fluoreto de sódio, para determinação bioquímica dos níveis plasmáticos de glicose e lactato. Um cateter 18g foi posicionado na veia jugular externa do lado esquerdo, e um extensor de cateter foi acoplado ao mesmo, com o objetivo de facilitar a aspiração do sangue durante o exercício. Uma solução heparinizada foi utilizada imediatamente após a coleta de cada amostra, afim de preservar o fluxo no cateter.

As amostras acondicionadas nos frascos de fluoreto de sódio foram refrigeradas, e em seguida centrifugadas a 1300 g durante 10 minutos, e o plasma foi aliquoteado em *ependorfs* (duplicatas), e em seguida congelado a -80°C. As amostras foram analisada através do analisador bioquímico automático (LABTEST, MODELO LABMAX 240), conforme os procedimentos de rotina do serviço de Laboratório Clínico do HOVET/FMVZ/USP.

5.7. COMPORTAMENTO

5.7.1 Ângulo da cabeça

O ângulo do eixo longitudinal da cabeça foi mensurado em repouso, durante o aquecimento e durante a manipulação do estímulo visual, e utilizado como medida objetiva do comportamento dos animais. As mensurações foram realizadas a partir de imagens de vídeo geradas por um *smartphone* (sistema IOS, EUA), posicionado sobre um tripé ao lado da esteira.

O processamento das imagens foi feito com uso do software ObjectVideo 1.6.1[®] (Objectus Technology, LLC, EUA), que apresenta três *features* importantes: modo de imagem em câmera lenta; ferramenta de eixo, e ferramenta de ângulo. O modo de visualização em câmera lenta permitiu a escolha do quadro com maior paralelismo, evitando erros de paralaxe. A ferramenta de eixo permitiu a

identificação do eixo vertical, sendo traçada uma linha reta com ângulo de 90° em relação ao solo, sobre o chanfro do animal. E por fim utilizou-se a ferramenta de ângulo, cujo vértice foi posicionado na região do chanfro, um dos eixos foi traçado sobre o eixo vertical previamente delimitado e o outro, sobre o contorno da fronte do animal em direção a crista nugal (Figura 9). As informações fornecidas pelos software foram salvas, e posteriormente anotadas em planilhas.

Figura 9. Mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça em relação ao eixo vertical de um equinos exercitando-se em esteira rolante de alta velocidade.

Fonte: Laboratório de Medicina Esportiva Equina da FMVZ/USP

5.7.2 Determinação das classes comportamentais

Os testes de esforço foram registrados continuamente por meio de uma câmera de vídeo - *smartphone* (sistema IOS, EUA), posicionada sobre um tripé ao lado da esteira, e em seguida as imagens foram armazenadas em drives compartilhados. Fez-se necessário identificar cada um dos vídeos em documento separado, afim de manter o cegamento dos avaliadores. A determinação das classes comportamentais foi realizada a partir do inventário descritivo dos comportamentos exibidos pelos animais durante a atividade física na esteira. Esses comportamentos foram anotados na ordem em que apareceram nos vídeos e detalhadamente descritos.

A partir do inventário dos comportamentos exibidos pelos equinos, as classes foram tabuladas, com as suas respectivas descrições, e o número de animais que manifestou tal classe, bem como o número de repetições foram anotados. Em seguida, estabeleceu-se a avaliação quanto a presença de determinado comportamento para cada animal, em cada um dos testes e em cada um dos tempos de observação. Logo, convencionou-se o código “0” para expressar a ausência da classe comportamental, e “1” para a presença da mesma. O Tempo 0 (*baseline*) foi descartado.

5.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis “frequência cardíaca”, “lactato plasmático”, “glicose plasmática” e “ângulo da cabeça” foram inicialmente avaliadas quanto a distribuição de probabilidades por meio da inspeção dos gráficos *boxplot*, histograma e quantil-quantil, disponíveis na biblioteca *ggplot2* (WICKHAM, 2016). As pressuposições de normalidade e homocedasticidade foram analisadas no geral, e quanto aos resíduos do modelo linear ($y \sim \text{Grupo} + \text{Tempo}$), utilizando-se os testes de Shapiro-wilk ($p > 0,15$), e Breusch-Pagan ($p > 0,05$), respectivamente. Diferenças no *baseline* foram testadas através do teste *t* de Student a 5%. A variável lactato apresentou assimetria na distribuição e foi numericamente transformada pela função logarítmica. Essas variáveis foram então analisadas por meio do modelo linear misto, biblioteca *lme4* (BATES et al., 2015), disponíveis no software R Studio, versão 3.1.2. As variáveis independentes, “grupo” e “tempo”, foram categorizadas e inseridas no modelo linear como efeitos fixos, e a variável “animal” como efeito aleatório. Para cada variável, os efeitos aleatórios e fixos foram selecionados com base no AIC e ANOVA, respectivamente. Os efeitos principais de grupo, tempo e interação (grupo*tempo) quando significativas ($p < 0,05$) foram detalhados por meio do teste de Tukey a 5%. Possíveis efeitos do período em que a observação foi feita ou do tipo *carryover* foram avaliados utilizando o modelo linear misto. O teste exato de Fisher a 5% foi utilizado para analisar as variáveis qualitativas deste estudo, que foram sumarizadas em matrizes 2x2, e a associação das mesmas com a variável grupo foi testada.

6 RESULTADOS

Os resultados apresentados nesta seção foram obtidos a partir da análise de uma amostra de equinos Lusitanos (4/7), Puro-Sangue-Árabe (2/7), e SRD (1/7) submetidos a um ensaio clínico *crossover* composto por dois grupos (Teste e Controle), três tempos (M0 – baseline; M1 – aquecimento; M2 – manipulação do estímulo visual).

A análise de correlação entre as variáveis “frequência cardíaca”, “lactato plasmático” e “glicose plasmática” foi utilizada para fins exploratórios, uma vez que representam um painel de marcadores físicos e bioquímicos relacionados à intensidade do exercício. De acordo com a matriz de correlação, pode-se observar baixo grau de dependência da frequência cardíaca e a glicose plasmática, e discreta associação linear entre o lactato e a glicose plasmáticos, e entre a frequência cardíaca e o lactato plasmático (Figura 10).

Figura 10. Correlação entre as variáveis glicose plasmática (glic), lactato plasmático (lack), e frequência cardíaca (FC) obtidos de uma amostra de 7 equinos submetidos a teste de carga constante em esteira rolante.

De forma geral, os equinos mostraram-se tolerantes aos estímulos visuais aplicados, com raros eventos de comportamentos de excitação e apreensão. No atinente à avaliação do *pool* de comportamentos manifestados pelos equinos neste estudo, a investigação iniciou-se pela realização do inventário descritivo das classes comportamentais, sumarizadas quanto ao número de animais, e quanto ao número de repetições no quadro 1. Pode-se observar que os comportamentos registrados com maior frequência foram também observados em um maior número de animais. As classes “bufar”, “atrasar” e “olhar para o lado” foram registradas mais frequentemente, enquanto que as classes “mastigar”, “recuar” e “abaixar a cabeça” apresentaram raras observações.

As classes com maior prevalência foram então selecionadas para análise estatística com o propósito de testar possível associação com a presença de estímulo de reatividade (seção 6.5).

Quadro 1. Inventário das classes comportamentais do equinos a estímulo visual de movimento *versus* controle.

Comportamento	Descrição	Animais (n°)	Repetições (n°)
Atrasar	Deslocar-se para trás (<1m)	7	23
Abaixar a cabeça	Estender o pescoço e abaixar a cabeça	3	4
Abrir a boca	Lábios separados	4	9
Balançar a cabeça	Balançar a cabeça lateralmente	3	7
Bufar	Expiração rápida com vibração das narinas	7	44
Dilatar narinas	Movimentos repetidos de abertura das narinas	3	6
Elevar a cabeça	Elevar a cabeça	4	5
Fixar orelhas caudalmente	Orelhas posicionadas para trás (> 5 segundos)	3	6
Fixar orelhas cranialmente	Orelhas posicionadas para frente (> 5 segundos)	7	13
Mastigar	Movimento de mastigação	2	2
Olhar para o lado	Deslocamento lateral da cabeça	5	21
Recuar	Deslocar-se para trás (>1 m)	3	4
Tropeçar	Tropeçar	3	5

6.2 FREQUÊNCIA CARDÍACA

As medidas de frequência cardíaca observadas nos grupos Teste e Controle não diferiram no *baseline* (T0; $p= 0,79$), sendo observadas médias e desvio-padrão correspondentes a 98 ± 44 b.p.m. e 92 ± 40 b.p.m., respectivamente. A análise de modelo linear misto revelou efeito principal de interação grupo*tempo ($p= 0,004$), e a análise *post hoc* indicou diferença entre os grupos no último tempo de observação, em que houve manipulação do estímulo visual. Neste momento a frequência cardíaca do grupo Teste (131 ± 28 b.p.m.) foi maior do que a observada no grupo controle (85 ± 15 b.p.m.) ($p= 0,05$) (Figura 11).

Não houve efeito principal de grupo ($p= 0,45$) ou tempo ($p= 0,29$), e portanto pode-se afirmar que o efeito da intervenção restringiu-se ao último tempo de observação, e desta forma aparenta estar circunscrito à estimulação visual.

Figura 11. Frequência cardíaca dos equinos submetidos a estímulo visual de movimento *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações do modelo linear para os grupos Teste e Controle, respectivamente.

Os parâmetros do modelo linear misto, utilizado para prever as medidas de frequência cardíaca a partir dos fatores grupo e tempo estão representados na figura 12. Pode-se estimar que a combinação dos níveis “Teste” e “T2” está associada a um desvio positivo médio nas medidas de FC de 40,02 b.p.m, [intervalo de confiança: -1,31 - 81,36 b.p.m.], conforme mencionado acima. Pode-se notar também, uma estimativa de elevação média de FC de 32,68 b.p.m. [intervalo de confiança: 3,11 - 62,26 b.p.m.], durante o aquecimento em relação ao repouso, sendo considerado significativo de acordo com o método de máxima verossimilhança ($p= 0,03$) (Figura 12).

Figura 12. Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, considerando-se a frequência cardíaca como variável dependente. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.

6.3 LACTATO PLASMÁTICO

A comparação das medidas de lactato plasmático no *baseline* não indicou diferença entre os grupos Teste ($1,8 \pm 0,3$ mg/dl), e Controle ($1,7 \pm 0,3$ mg/dl) (T0; $p = 0,65$). A análise de modelo linear misto revelou efeito principal de tempo ($p < 0,01$) e interação grupo*tempo ($p < 0,01$). A utilização dos testes *post hoc*, permitiu observar que durante a manipulação do estímulo visual (T2), o nível plasmático de lactato foi maior no grupo Teste ($1,8 \pm 0,2$ mg/dl) do que no grupo Controle ($1,4 \pm 0,30$ mg/dl) ($p=0,04$) (Figura 13).

Figura 13. Log das concentrações de lactato plasmático (mg/dl) dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos teste e controle, respectivamente.

De acordo com os parâmetros do modelo linear misto, pode-se estimar que a combinação dos níveis “grupo Teste” e “tempo 2” está associada a uma elevação média do log da concentração de lactato em 0,40 mg/dl [intervalo de confiança: 0,10 – 0,70 mg/dl.]. Pode-se notar também, que independentemente da natureza do estímulo visual aplicado, espera-se uma redução da concentração plasmática de lactato nos tempos 1 e 2 (Figura 14).

Figura 14. Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável lactato plasmático. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.

Conforme descrito acima, houve suficiente evidência para afirmar que no sentido amplo, os níveis plasmáticos de lactato decresceram ao longo do tempo, e as comparações múltiplas indicaram que houve diferença entre o baseline ($1,77 \pm 0,10$ mg/dl) e o aquecimento ($1,55 \pm 0,10$ mg/dl) ($p= 0,0001$), e entre o baseline e a manipulação do estímulo visual ($1,64 \pm 0,10$ mg/dl) ($p= 0,03$) (Figura 15).

Figura 15. Representação por meio de *boxplot* da variação das medidas do log da concentração de lactato plasmático (mg/dl) em equinos submetidos a teste físico de carga constante em esteira, ao longo dos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual” (T2).

6.4 GLICOSE PLASMÁTICA

As medidas de glicose plasmáticas dos grupos Teste ($80,7 \pm 6,9$ mg/dl) e Controle ($75,0 \pm 4,4$ mg/dl) não apresentaram diferenças significativas no *baseline* (T0; $p = 0,09$). A análise de modelo linear misto revelou efeito principal de tempo ($p < 0,01$), e não detectou interação (grupo*tempo) ($p = 0,18$) (Figura 16).

Figura 16. Glicose plasmática (mg/dl) dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos teste e controle, respectivamente.

Os parâmetros estimados para o modelo linear misto, utilizado para prever as medidas de glicose plasmática, a partir dos fatores grupo e tempo estão representados na figura 17. Pode-se observar que, independentemente do estímulo visual aplicado, estima-se uma redução média das medidas de glicose plasmática em T2 de aproximadamente 7,7 mg/dl [intervalo de confiança: -12,0 a -3,4 mg/dl] (Figura 17).

Figura 17. Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável glicose plasmática. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.

A aplicação dos testes *post hoc* indicou que de forma geral, o nível plasmático de glicose durante a manipulação do estímulo visual (T3) ($70,1 \pm 2,4$ mg/dl) foi menor do que o observado no *baseline* ($79,9 \pm 2,3$ mg/dl) ($p < 0,01$) (Figura 18).

Figura 18. Representação por meio de *boxplot* da variação dos níveis plasmáticos de glicose (mg/dl) de equinos, durante teste físico de carga constante, nos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual (T3).

6.5 COMPORTAMENTO

6.5.1 Ângulo da cabeça

O ângulo do eixo longitudinal da cabeça em relação à vertical foi utilizado como medida objetiva do comportamento dos animais neste estudo. Os valores desta variável nos grupos Teste e Controle não diferiram entre si no *baseline* ($p=0,93$), momento em que estes apresentaram médias correspondentes a $17 \pm 7^\circ$ e $20 \pm 5^\circ$, respectivamente. Na avaliação subsequente (T1; aquecimento) também não houve diferença entre as médias de ambos os grupos Teste ($23 \pm 7^\circ$) e Controle ($25 \pm 5^\circ$). Por fim, a análise das medidas observadas no último tempo (T2; manipulação do estímulo visual), revelou que o ângulo médio da cabeça do grupo Teste ($36 \pm 4^\circ$) foi superior ao Controle ($25 \pm 5^\circ$) ($p < 0,0001$) (Figura 19).

Figura 19. Ângulo da cabeça dos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle, no *baseline* (tempo 1), aquecimento (tempo 2), e manipulação do estímulo visual (tempo 3). As linhas verde e vermelha são representações dos modelos lineares para os grupos Teste e Controle, respectivamente

De acordo com os parâmetros estimados pelo modelo linear misto, a combinação dos níveis dos fatores grupo e tempo (grupo Teste * tempo 2) apresentou efeito relevante sobre o ângulo da cabeça, estimando-se uma elevação média de 14° [intervalo de confiança: 9 a 21°] (Figura 20).

Figura 20. Parâmetros estimados para os efeitos fixos do modelo linear misto, para a variável ângulo da cabeça. O círculo e a barra horizontal representam as médias e o intervalo de confiança, respectivamente.

O efeito descrito acima pode ser melhor compreendido por meio da observação das imagens extraídas de vídeos de um mesmo animal (égua Clarice) exposto ao estímulo visual controle (Figura 21) e ao estímulo visual de reatividade (Figura 22).

Figura 21. Imagem da mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça na égua Clarice, quando exposta ao estímulo visual controle, durante teste físico de carga constante em esteira.

Fonte: BOGOSSIAN (2020).

Figura 22. Imagem da mensuração do ângulo do eixo longitudinal da cabeça na égua Clarice, quando exposta ao estímulo visual de reatividade, durante teste físico de carga constante em esteira.

Fonte: BOGOSSIAN (2020).

Adicionalmente, observou-se efeito principal de tempo ($p < 0,0001$) para esta variável, ou seja no aspecto amplo, o protocolo de exercício induziu um aumento do ângulo da cabeça. O teste de Tukey revelou diferenças entre o *baseline* ($19 \pm 2^\circ$) e o aquecimento ($24 \pm 2^\circ$) ($p = 0,004$), e entre o aquecimento e a manipulação do estímulo visual ($31 \pm 2^\circ$) ($P = 0,0001$) (Figura 23).

Figura 23. Representação por meio de *boxplot* da variação do ângulo do eixo longitudinal da cabeça de equinos, durante teste físico de carga constante, nos tempos “repouso” (T0), “aquecimento” (T1) e “manipulação do estímulo visual (T3).

6.5.2 Prevalência dos comportamentos

O objetivo desta seção é comparar a prevalência dos comportamentos exibidos pelos equinos em cada um dos grupos experimentais. Tais comparações foram feitas separadamente para os seguintes tempos de avaliação: aquecimento (Tabela 1).

Tabela 1. Prevalência dos comportamentos exibidos pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante o aquecimento de teste físico de carga constante em esteira (n=7).

Classes	Grupo				p valor
	Controle		Teste		
	Número n	Prevalência %	Número n	Prevalência %	
Atrasar	6	86	1	14	0,029
Abrir a boca	3	43	1	14	0,559
Bufar	5	71	7	100	0,461
Dilatar as narinas	1	14	1	14	-
Fixar orelhas para frente	2	28	0	0	0,461
Olhar para o lado	1	14	3	43	0,559
Recuar	0/7	0	0/7	0	-

Em relação aos comportamentos manifestados durante o aquecimento pode-se notar que a classe “atrasar” foi registrada com maior frequência no grupo Controle (6/7; 88%), quando comparado ao grupo Teste (1/7; 14%) ($p= 0,029$) (Figura 24).

Figura 24. Prevalência do comportamento “atrasar”, exibido pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante o aquecimento de teste físico de carga constante em esteira.

Estímulo visual controle

Estímulo visual reatividade

No atinente ao momento de manipulação do estímulo visual, pode-se observar que os animais apresentaram o comportamento de posicionar as orelhas cranialmente de forma mais frequente no grupo Teste (7/7; 100%) do que no grupo Controle (1/7; 14%) ($p = 0,004$) (Tabela 2; Figura 25). Nas demais classes comportamentais a frequência com que o comportamento foi observado mostrou-se equivalente entre os grupos teste e controle. (Figura 25).

Tabela 2. Prevalência dos comportamentos exibidos pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante a manipulação do estímulo visual.

Classe	Grupo				p valor
	Controle		Teste		
	Número n	Prevalência %	Número n	Prevalência %	
Atrasar	0/7	0	4/7	57	0,069
Abrir a boca	0/7	0	1/7	14	-
Bufar	3/7	43	1/7	14	0,559
Dilatar as narinas	0/7	0	3/7	43	0,192
Fixar orelhas para frente	1/7	14	7/7	100	0,004
Olhar para o lado	1/7	14	3/7	43	0,559
Recuar	0/7	0	3/7	43	0,192

Figura 25. Prevalência do comportamento “fixar orelhas cranialmente”, exibido pelos equinos submetidos a estímulo visual de reatividade *versus* controle durante a manipulação do estímulo visual.

Estímulo visual controle

Estímulo visual de reatividade

6.6 EFEITO DO PERÍODO DE OBSERVAÇÃO E *CARRYOVER*

No atinente ao desenho experimental, é importante destacar que não houve efeito *carryover* para as variáveis frequência cardíaca ($p= 0,26$), lactato plasmático ($p= 0,54$), glicose plasmática ($p= 0,38$), e ângulo da cabeça ($p= 0,12$).

Em relação ao efeito do período, as variáveis frequência cardíaca ($p= 0,26$), glicose plasmática ($p= 0,84$) e ângulo da cabeça ($p= 0,66$) não apresentaram resultados significativos, entretanto o lactato plasmático apresentou significativa influência do período em que foi feita a observação. Observou-se maiores médias na primeira coleta (período 1; $1,8 \pm 0,1$ mg/dl) em comparação à segunda coleta (período 2; $1,5 \pm 0,1$ mg/dl) ($p= 0,002$) (Figura 26).

Figura 26. Efeito do período de observação sobre os níveis de lactato plasmático; os números 1 e 2 correspondem ao primeiro e ao segundo período de observação, respectivamente

O modelo linear misto foi então refeito, adicionando-se o fator “período” como efeito fixo, e os resultados da ANOVA não indicaram interação grupo*período ($p=0,47$; $F=0,52$), demonstrando que o efeito do período, apesar de significativo, foi constante para ambos os grupos. Após verificada a ausência de interação, o modelo linear misto foi novamente ajustado, incluindo-se a variável “período” como efeito aleatório, e notou-se considerável redução na *akaike information criterion* (de 30,2 para 13,5). A comparação entre os parâmetros dos três modelos: inclusão do fator animal como efeito aleatório (modelo final) (Figura 27); inclusão dos fatores animal e período como efeitos aleatórios (Figura 28); interação de 3 vias (grupo*tempo*período) (Figura 29), permite notar que independentemente do modelo escolhido, a combinação “grupo Teste” e “tempo 2” explica uma porção significativa da variância.

Figura 27. Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), não ajustado quanto ao período de observação.

Figura 28. Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), ajustado quanto ao período de observação.

Figura 29. Representação dos parâmetros do modelo linear misto para a variável lactato plasmático (log), incluindo o fator “período de observação” como efeito fixo.

7 DISCUSSÃO

O principal achado desta investigação foi a elevação da atividade muscular, via aumento da contribuição anaeróbia láctica, dos equinos expostos a um estímulo visual de reatividade. Tais resultados corroboram estudos realizados em animais vertebrados e invertebrados, os quais estabeleceram a relação entre a percepção sensorial e a locomoção (OMETTO et al., 2005; BAR et al., 2015; KASANIYA; THOMAS; MOFFATT, 2019). O estímulo visual utilizado pelos autores teve o objetivo de suscitar uma resposta motora relacionada ao comportamento de iniciação do movimento, e para tanto, um equino em pleno movimento de trote foi projetado na parede a frente do elemento experimental.

Os equinos apresentam notáveis adaptações visuais para lidar com a exposição aos predadores em ambientes naturais, dentre as quais destacam-se o amplo campo visual: a posição lateralizada dos olhos permite uma visão panorâmica do ambiente; elevada acuidade visual: os equinos são capazes de visualizar objetos a 30 ciclos por grau (acuidade duas vezes maior que a observada no gato doméstico); visão binocular: são capazes de sobrepor a visão de ambos os olhos em um campo visual binocular de aproximadamente 80°.

Além disso, há evidências de que os equinos utilizam o movimento da cabeça para incluir objetos de interesse no campo de visão binocular: para observar objetos mais distantes elevam a cabeça e estendem o pescoço, e para observar objetos mais próximos, os equinos podem flexionar o pescoço e rotacionar a cabeça (HARMAN et al., 1999). No presente estudo, os equinos elevaram o ângulo da cabeça quando expostos ao estímulo de reatividade, enquanto mantiveram-se com a postura normal durante a exposição ao estímulo controle, sugerindo uma tentativa de melhorar a visualização do vídeo.

O aumento observado nesta medida angular resulta dos movimentos simultâneos de elevação da cabeça e extensão do pescoço. Adicionalmente, a comparação subjetiva das figuras 21 e 22 permite notar que o globo ocular da égua Clarice apresentou forma e expressão diferentes quando a mesma foi exposta ao estímulos visual controle (Figura 21) e reatividade (Figuras 22), indicando a presença movimentos sacádicos (oculomotricidade). A coordenação dos

movimentos oculares tem relação com o estabelecimento da visão binocular, e com o alinhamento entre o eixo de visão e o objeto de interesse (COUBARD, 2013).

A exposição ao estímulo visual modificou também a posição das orelhas; quando expostos ao estímulo de reatividade os equinos mantiveram as orelhas eretas e voltadas para frente, enquanto que a exposição ao estímulo controle não gerou movimento adicional das orelhas. Pode-se afirmar, portanto, que os animais utilizaram o movimento do pavilhão auricular para ampliar o *set* sensorial, de forma a obter uma informação auditiva sobre o objeto de interesse. Há evidências de que o posicionamento ereto e voltado para frente das orelhas pode significar um estado de atenção (WATHAN; MCCOMB, 2014; PROFILE, 2017; ROCHAIS et al., 2017).

A atenção tem sido considerada um fator importante para diversos processos cognitivos, tais como a memória, aprendizado e categorização (COWAN, 1998). No presente estudo, o estado de atenção exibido pelos cavalos pode significar uma tentativa de refinar a categorização das imagens, e uma vez classificadas com sucesso, o estímulo de reatividade pode ter sido abarcado por um componente social, que por sua vez requer informação adicional. Diante do exposto, há suficiente evidências para afirmar que o vídeo utilizado como estímulo de reatividade foi percebido pelos equinos, entretanto, o grau de incerteza sensorial, e de processamento cognitivo, por ora, permanecerão intangíveis.

Há evidências de que a atenção relaciona-se à qualidade do processo decisório em contextos como detecção de predadores, competição, comunicação e aprendizado social (RANGE et al., 2009; BEAUCHAMP, 2010). No presente estudo, o estímulo visual projetado à frente do elemento experimental simulou o contexto de competição, em que um animal frequentemente encontra-se atrás do outro e, portanto, justifica o elevado estado de atenção observado. Vale destacar que, além da seleção natural para a rápida iniciação do movimento, os equinos foram intensamente selecionados para habilidades esportivas nos últimos séculos, o que pode ter contribuído para a consolidação da mentalidade competitiva. Os aspectos cognitivos citados acima (comunicação e aprendizado social) também podem ter influenciado, em alguma medida, o processo decisório.

O processo decisório tem sido amplamente investigado, posto que resulta de um sofisticado mecanismo neurobiológico de “acoplamento” entre a percepção sensorial e a ação motora. Este fenômeno, denominado transformação sensoriomotora é profundamente conhecido em animais vertebrados e

invertebrados, e está intimamente relacionado à eficiência dos comportamentos de fuga e alimentação (CARD; DICKINSON, 2008; HOFMANN et al., 2013; BAR et al., 2015; TOMASSINI; MORRONE, 2016; SENGUPTA et al., 2018). Em animais vertebrados, a transformação sensoriomotora é um fenômeno reconhecidamente variável, dependente do contexto e experiência (HANES; SCHALL, 1996). Ambientes complexos e com elevado grau de incerteza sensorial podem influenciar a prevalência de manifestações sensoriomotora específicas, tais como a imitação (APESTEGUIA; HUCK; OECHSSLER, 2007).

No presente estudo, os equinos foram avaliados em ambientes complexos sob a perspectiva espacial (presença de pessoas, ruídos e equipamentos) e sensorial (estímulo que exigiu acuidade visual e interpretação), e portanto a hipótese de que a imitação pode ser um dos componente que influenciou a iniciação do movimento deve ser considerada. O comportamento de imitação pode ser definido como a cópia do movimento corporal guiada pela atribuição de objetivos ou intenções. Apesar de extensa e multidisciplinar, a literatura sugere que a imitação baseia-se na capacidade de meta-representação, isto é, a representação da intenção de outros (HEYES, 2001).

Os resultados do modelo linear misto indicaram que houve uma elevação dos níveis plasmáticos de lactato durante a exposição ao estímulo de reatividade, quando comparado ao controle. Neste caso, a presença de interação grupo*tempo tem especial significado biológico, pois indica que tais alterações bioquímicas estiveram circunscritas à exposição ao estímulo visual. Os níveis plasmáticos de lactato são influenciados pelo equilíbrio dinâmico entre o ritmo de produção pelas fibras musculares durante a glicólise anaeróbia, e o ritmo de remoção por fibras musculares esqueléticas e cardíacas, que de acordo com estudos recentes, são aptas a remover o lactato livre na circulação, e utilizá-lo como substrato energético (BROOKS, 2002; GLADDEN, 2004, 2008).

A avaliação das concentrações plasmáticas de lactato durante testes físicos padronizados tem demonstrado potencial preditivo do nível de condicionamento físico dos equinos (MUÑOZ et al., 1997; KRONFELD et al., 2000; EVANS, 2007; MUNSTERS et al., 2014; ALLEN; VAN ERCK-WESTERGREN; FRANKLIN, 2016). Em linhas gerais, o ritmo de produção do lactato eleva-se em função do aumento da demanda física, e da requisição glicolítica (EVANS et al., 1995; WILLIAMSON et al., 1996; MUÑOZ et al., 1999).

No presente estudo, o estado de atenção diante do estímulo visual provavelmente gerou um reajuste biomecânico com finalidade preparatória ou antecipatória. Este novo *set* biomecânico foi provavelmente iniciado e sustentado por uma substancial ação neuromuscular, que por sua vez refletiu-se em lactacidemia transitória. De acordo com o conhecimento dos autores, a mensuração do lactato plasmático em testes físicos controlados, reflete precisamente a demanda física, com a vantagem de receber mínima influência de variáveis circunstanciais, tais como estresse psíquico agudo e condicionamento operante. Em um estudo anterior realizado por este grupo, hipotetizou-se que a o enxague oral com carboidrato poderia elevar a intensidade do exercício e o tempo até a exaustão de cavalos durante teste incremental a campo; os resultados refutaram o efeito ergogênico da intervenção, entretanto houve considerável aumento das concentrações plasmáticas de lactato relacionado a presença do carboidrato (BOGOSSIAN et al., 2017).

Além do componente sensorial mencionado anteriormente, a elevação da cabeça e a extensão cervical são parte do reajuste biomecânico preparatório; há evidências de que a posição da cabeça tem influência na cinemática corporal (LAWSON; MARLIN, 2010). Álvarez e colaboradores (2006) observaram que, durante o movimento, a elevação da cabeça está associada à maior extensão da porção cranial da coluna torácica, e concomitantemente, há maior flexão da coluna lombar (ÁLVAREZ et al., 2006). Posturas mais restritivas (flexão e hiperflexão crânio-cervical) tem sido associadas a maior assimetria nos parâmetros biomecânicos em cavalos não montados (EGENVALL et al., 2019). Sabe-se também que a posição da cabeça tem efeito sobre o sistema respiratório: a hiperflexão cervical, exigida em muitas modalidades equestres, reduz o diâmetro da nasofaringe e consequentemente eleva a resistência das vias aéreas anteriores (ALLEN et al., 2011). Pode-se notar que os equinos adaptaram-se ao contexto de competição, priorizando o equilíbrio corporal, a flexão toracolombar, e a abertura das vias aéreas. Estas características adaptativas pressupõem um estado de alerta e de antecipação, e favorecem a iniciação bem-sucedida do movimento.

Os estudos em animais esclarecem tópicos importantes acerca do processo de transformação sensoriomotora; Bar e colaboradores (2014) dedicaram-se a entender como os morcegos são capazes de manter a performance do voo em contextos heterogêneos quanto a quantidade luz. Para tanto, os autores condicionaram os

animais a abordar um objeto esférico posicionado aleatoriamente em uma sala, ora iluminada, ora escura. Os experimentos demonstraram que a presença de luz modula a estratégia de voo, de forma que em ambientes iluminados, os animais realizam uma trajetória mais retilínea em direção ao alvo, enquanto que na ausência de luz, a abordagem se dá por meio de trajetórias curvas, e “loopings” em torno do objeto. Os resultados levaram Bar e colaboradores à conclusão de que a perda de eficiência exibida pelos morcegos no escuro deve-se à limitações sensoriais, e não motoras (BAR et al., 2015). Admitindo-se que a ação motora bem-sucedida está condicionada a percepção clara do ambiente, pode-se inferir que os equinos priorizam a captação dos estímulos sensoriais, enquanto elaboram um plano motor.

Os resultados de Bar podem ser adicionados à outras investigações recentes, que dedicaram-se a decompor a iniciação o do movimento nos componentes sensorial e motor; quando um sujeito identifica um objeto em queda, quanto tempo o mesmo aloca na percepção da trajetória de queda, e na execução da ação de pegar o objeto? Esta pergunta refere-se a um fenômeno designado “*trade-off* sensoriomotor”. Há relatos de que este *trade-off* é extremamente variável, e reflete o processo de tomada de decisão subjacente (SENGUPTA et al., 2018).

No contexto esportivo, incerteza sensorial e tempo de reação são habilidades importantes para o desempenho; Oudjeans e coautores (1997) hipotetizaram que o treinamento de *baseball* poderia interferir com o *trade-off* sensoriomotor, e antecipar o movimento do atleta em direção ao alvo, entretanto os resultados refutaram tal hipótese, e indicaram que para além do tempo de reação, a experiência do atleta auxiliou na habilidade de iniciar o movimento na direção correta (OUDEJANS; MICHAELS; BARKER, 1997). No presente estudo, o *trade-off* sensoriomotor não foi avaliado; futuros estudos, dedicados à compreensão deste fenômeno nos equinos, e a sua relação com a iniciação do movimento, poderiam concentrar-se na padronização de testes de reatividade a campo. Pode-se supor que a velocidade de reação, e a eficiência no processo decisório são qualidades importantes para o equino moderno, que é solicitado a executar movimentos rápidos e com alta precisão durante as competições.

Pode-se inferir também a respeito da presença de um *set* metabólico antecipatório, ao interpretarmos os resultados obtidos com as variável frequência cardíaca. Nos equinos, a frequência cardíaca apresenta um notável espectro de variação; de 20 batimentos por minuto em repouso a 270 b.p.m. em sessões de

exercício de alta intensidade. O ritmo cardíaco é controlado pelo equilíbrio entre a atividade eferente dos sistema nervoso simpático e parassimpático, circulação de catecolaminas, e temperatura corporal (HAMLIN et al., 1972). É atualmente bem estabelecido que a FC apresenta variações periódicas indicativas da contribuição relativa de cada um dos componentes do sistema nervoso autônomo (YAMAMOTO; HUGHSON; PETERSON, 1991). Nos equinos, o sistema parassimpático provavelmente explica alterações do ritmo cardíaco quando a frequência cardíaca compreende-se entre 20 e 100 batimentos por minuto. Durante o exercício, a FC eleva-se de 100-150 b.p.m. para valores acima de 250 b.p.m. por ação do sistema nervoso simpático e ou pela ação de catecolaminas (HAMLIN et al., 1972).

A relação entre o grau de esforço e a frequência cardíaca tem sido amplamente investigada em cavalos durante testes físicos padronizados a campo, e em esteira rolante (MUÑOZ et al., 1998; OHMURA et al., 2002; EVANS, 2007; MUNSTERS et al., 2014). A extensa literatura sobre o assunto consensualmente descreve uma associação positiva entre o esforço e a frequência cardíaca, e postula a validade da mesma como indicador de condicionamento físico. No presente estudo, a exposição ao estímulo de reatividade elevou significativamente a frequência cardíaca; tal elevação deve-se a uma combinação entre o esforço físico necessário para manter uma postura preparatória, e o estresse típico de situações de competição.

No atinente a concentração plasmática de glicose, não houve diferença entre os grupos durante a manipulação do estímulo visual; os resultados indicam efeito principal do tempo, o que significa que independentemente da natureza do estímulo visual aplicado, a glicemia reduziu-se gradativamente em resposta ao exercício propriamente dito. Essa diminuição pode ser atribuída à utilização de glicose como substrato energético para a contração muscular, durante as fases de aquecimento e manipulação do estímulo visual.

Sabe-se que o condicionamento físico influencia a mudança da fonte energética durante o exercício submáximo. Em indivíduos treinados, a utilização de carboidratos como substrato energético gradativamente diminui, enquanto a oxidação de lipídeos aumenta; isto ocorre em resposta à redução da taxa de mobilização do glicogênio, e pela redução da razão de troca respiratória ("RER") (GEOR et al., 2002; COTTIN et al., 2010; FORTIER et al., 2015). No presente estudo, os equinos não receberam treinamento aeróbio antes da execução dos

testes físicos, logo provavelmente exercitaram-se a uma razão de troca respiratória elevada, o que justifica a redução gradual dos níveis plasmáticos de glicose.

Há algumas limitações no nosso estudo, a começar pelo desenho experimental. O processo de familiarização e acomodação a um estímulo visual de reatividade incute certa subjetividade; optamos por realizar um período longo de familiarização à locomoção em esteira, e um período curto de adaptação ao vídeo, afim de prevenir acomodação. O tempo de familiarização notadamente estabiliza o comportamento, e minimiza as reações diante de estímulos novos. Outra limitação foi o período de “washout”; no momento do planejamento do estudo, classificamos a estimulação visual como uma intervenção fugaz, entretanto não há conhecimento prévio a respeito da habituação ou sensibilização à estímulos desta natureza. É possível que o efeito do período de observação, que incidiu sobre a variável “lactato plasmático” tenha sido consequência de uma discreta dessensibilização dos animais ao estímulo visual.

No atinente a avaliação qualitativa do comportamento, a literatura sugere a utilização de dois avaliadores especializados em comportamento animal, validação em amostra de treinamento e avaliação da concordância por meio do coeficiente kappa (PIERARD et al., 2015). Uma limitação do estudo foi a utilização de um único avaliador, entretanto algumas precauções foram tomadas: o avaliador não teve acesso à identificação dos vídeos antes da análise (as identificações foram feitas por um outro membro da equipe, e anotadas em planilha); utilização de critérios objetivos (movimento da cabeça, orelhas, dentre outros).

Até onde sabemos este é o primeiro estudo que investigou a transformação sensoriomotora em equinos visualmente estimulados durante o exercício. Futuros estudos poderão desenvolver métodos para quantificar a velocidade de reação dos equinos, bem como as bases do processo decisório para iniciação do movimento. Possíveis associações entre a reatividade e o desempenho em competições que envolvem rápida decisão, ou precisão nas mudanças de direção poderão ser testadas. Modalidades equestres tradicionais como o cross-country, pólo, apartação e vaquejada, exigem alto nível de interação percepção-ação, e portanto os animais engajados nessas disciplinas poderão se beneficiar de treinamento sensoriomotor adequado.

8 CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados oferecem suporte para a hipótese de que os equinos modulam a atividade motora durante a iniciação do movimento, quando visualmente estimulados, e elevam a intensidade do exercício. O contexto de competição, recriado no laboratório, notadamente gerou um aumento da contribuição anaeróbia láctica dos equinos durante a iniciação de um movimento. A existência de uma via de acoplamento entre a percepção sensorial e ação motora pode fundamentar o desenvolvimento de novas estratégias de treinamento de equinos atletas.

Os autores observaram que, durante testes controlados, o estímulo visual de reatividade relaciona-se aos seguintes eventos biológicos:

- Elevada concentração de lactato plasmático (28%): acréscimo médio de 2,53 mg/dl ($10^{0,40} = 2,51$) em relação ao grupo controle.
- Frequência cardíaca elevada (57%): acréscimo médio correspondente a 40 b.p.m em relação ao grupo controle.
- Elevada prevalência de comportamentos de atenção: movimento do pavilhão auricular, movimentos sacádicos e ajuste dos ângulos de cabeça e pescoço.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, K. J. et al. Equitation and exercise factors affecting dynamic upper respiratory tract function: A review illustrated by case reports. **Equine Veterinary Education**, v. 23, n. 7, p. 361–368, 2011.
- ALLEN, K. J.; VAN ERCK-WESTERGREN, E.; FRANKLIN, S. H. Exercise testing in the equine athlete. **Equine Veterinary Education**, v. 28, n. 2, p. 89–98, 2016.
- ÁLVAREZ, C. B. G. et al. The effect of head and neck position on the thoracolumbar kinematics in the unridden horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n. SUPPL.36, p. 445–451, 2006.
- APESTEGUIA, J.; HUCK, S.; OECHSSLER, J. Imitation — theory and experimental evidence. **Journal of Economic Theory**, v. 136, p. 217–135, 2007.
- ART, T. et al. Synchronization of Locomotion and Respiration in Trotting Ponies. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 37, n. 1–10, p. 95–103, 1990.
- BAR, N. S. et al. A Sensory-Motor Control Model of Animal Flight Explains Why Bats Fly Differently in Light Versus Dark. **PLoS Biology**, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2015.
- BATES, D. et al. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using {lme4}. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1–48, 2015.
- BEAUCHAMP, G. A comparative analysis of vigilance in birds. **Evolutionary Ecology**, v. 24, n. 5, p. 1267–1276, 2010.
- BECKER, W. The neurobiology of saccadic eye movements. **Rev Oculomot Res.**, v. 3, n. 13–67, 1989.
- BOGOSSIAN, P. M. et al. Effect of carbohydrate mouth rinse on exercise performance in horses. **Comparative Exercise Physiology**, v. 13, n. 2, 2017.
- BOURJADE, M. et al. Decision-making in przewalski horses (*equus ferus przewalskii*) is driven by the ecological contexts of collective movements. **Ethology**, v. 115, n. 4, p. 321–330, 2009.
- BRIARD, L.; DORN, C.; PETIT, O. Personality and Affinities Play a Key Role in the Organisation of Collective Movements in a Group of Domestic Horses. **Ethology**, v. 121, n. 9, p. 888–902, 2015.
- BROOKS, G. A. Lactate shuttle - Between but not within cells? **Journal of Physiology**, v. 541, n. 2, p. 333–334, 2002.
- BULENS, A. et al. The use of different objects during a novel object test in stabled horses. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 10, n. 1, p. 54–58, 2015.

- BUTLER, P. J. et al. Stride length and respiratory tidal volume in exercising thoroughbred horses. **Respiration Physiology**, v. 93, n. 1, p. 51–56, 1993.
- CAPRILLI, F. **Opere di Federico Caprilli**. Edizioni la Biblioteca Digitale. 2014. Disponível em: <https://www.amazon.com.br/Opere-Federico-Caprilli-Italian-ebook/dp/B00HVLNT40>. Acessado em 18/02/2020.
- CARD, G.; DICKINSON, M. H. Visually Mediated Motor Planning in the Escape Response of *Drosophila*. **Current Biology**, v. 18, n. 17, p. 1300–1307, 2008.
- COTTIN, F. et al. Oxygen consumption and gait variables of Arabian endurance horses measured during a field exercise test. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. SUPPL. 38, p. 1–5, 2010.
- COUBARD, O. A. Saccade and vergence eye movements: A review of motor and premotor commands. **European Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 10, p. 3384–3397, 2013.
- COWAN, N. **Attention and memory: an integrated framework**. Oxford Scholarship. 1998.
- DORRIS, M. C.; MUNOZ, D. P. Saccadic probability influences motor preparation signals and time to saccadic initiation. **Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 17, p. 7015–7026, 1998.
- EATON, M. D. et al. Maximal accumulated oxygen deficit in thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**, v. 78, n. 4, p. 1564–1568, 1995.
- EGENVALL, A. et al. Withers vertical movement asymmetry in dressage horses walking in different head- 2 neck positions with and without riders. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v.36, p.72–83, 2019.
- EHRlich, D. E.; SCHOPPIK, D. Control of Movement Initiation Underlies the Development of Balance. **Current Biology**, v. 27, n. 3, p. 334–344, 2017.
- EVANS, D. A. et al. Cognitive Control of Escape Behaviour. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 23, n. 4, p. 334–348, 2019.
- EVANS, D. L. et al. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 27, n. 18 S, p. 422–425, 1995.
- EVANS, D. L. Physiology of equine performance and associated tests of function. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 4, p. 373–383, 2007.
- FORTIER, J. et al. Quantification of the energy expenditure during training exercises in Standardbred trotters. **Animal**, v. 9, n. 5, p. 793–799, 2015.

- GEOR, R. J. et al. Training-induced alterations in glucose metabolism during moderate-intensity exercise. **Equine veterinary journal. Supplement**, v. 34, n. 34, p. 22–28, 2002.
- GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: A new paradigm for the third millennium. **Journal of Physiology**, v. 558, n. 1, p. 5–30, 2004.
- GLADDEN, L. B. A “lactatic” perspective on metabolism. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 3, p. 477–485, 2008.
- HALL, C. et al. Assessment of ridden horse behavior. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 8, n. 2, p. 62–73, 2013.
- HAMLIN, R. L. et al. Autonomic control of heart rate in the horse. **The American journal of physiology**, v. 222, n. 4, p. 976–978, 1972.
- HANES, D. P.; SCHALL, J. D. Neural control of voluntary movement initiation. **Science**, v. 274, n. 5286, p. 427–430, 1996.
- HARMAN, A. M. et al. Horse vision and an explanation for the visual behaviour originally explained by the “ramp retina”. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 5, p. 384–390, 1999.
- HEYES, C. Causes and consequences of imitation. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 5, n. 6, p. 253–261, 2001.
- HOFFMANN, C. P. et al. Energy management using virtual reality improves 2000-m rowing performance. **Journal of Sports Sciences**, v. 32, n. 6, p. 501–509, 2014.
- HOFFMANN, R. **On the development of social behaviour in immature males of a feral horse population (Equus przewalskii f. caballus)**, v. 50, p. 302–314, 1985. .
- HOFMANN, V. et al. Sensory flow shaped by active sensing: Sensorimotor strategies in electric fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 216, n. 13, p. 2487–2500, 2013.
- JANICEK, J. C.; KETZNER, K. M. Airflow mechanics, upper respiratory diagnostics, and performance-limiting pharyngeal disorders. **Compendium Equine**, v. 3, n. September, p. 366–380, 2008.
- KASANIYA, M.; THOMAS, M. D. A.; MOFFATT, E. G. Development of rapid and reliable pozzolanic reactivity test method. **ACI Materials Journal**, v. 116, n. 4, p. 145–154, 2019.
- KRONFELD, D. S. et al. Determination of the lactate breakpoint during incremental exercise in horses adapted to dietary corn oil. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 2, p. 144–151, 2000.
- KRUEGER, K. et al. Movement initiation in groups of feral horses. **Behavioural**

Processes, v. 103, n. October 2018, p. 91–101, 2014.

LAWSON, S. E. M.; MARLIN, D. J. Preliminary report into the function of the shoulder using a novel imaging and motion capture approach. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. SUPPL. 38, p. 552–555, 2010.

MARLIN, D. Has the golden age of equine exercise physiology passed and if so, have we answered all the big questions? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 5, p. 354–360, 2015.

MCBRIDE, S. D. et al. Applied neurophysiology of the horse; implications for training, husbandry and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 190, p. 90–101, 2017.

MCLEAN, A. N.; MCGREEVY, P. D. Horse-training techniques that may defy the principles of learning theory and compromise welfare. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 5, n. 4, p. 187–195, 2010.

MELLOR, D. J.; BEAUSOLEIL, N. J. Equine welfare during exercise: An evaluation of breathing, breathlessness and bridles. **Animals**, v. 7, n. 6, p.41, 2017. .

MUÑOZ, A. et al. The Use of Functional Indexes to Evaluate Fitness in Andalusian Horses. **Journal of Veterinary Medicine and Science**. v. 59, n. 9, p. 747–752, 1997.

MUÑOZ, A. et al. Investigation of standardized exercise Tests according to fitness level for three-day event horses. **Journal of Equine Science**, v. 9, n. 1, p. 1–7, 1998.

MUÑOZ, A. et al. Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and Anglo-Arabian horses. **Research in Veterinary Science**, v. 66, n. 1, p. 25–31, 1999.

MUNSTERS, C. C. B. M. et al. Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions. **Veterinary Journal**, v. 202, n. 1, p. 11–19, 2014.

OHMURA, H. et al. Physiological responses of young Thoroughbreds during their first year of race training. **Equine veterinary journal. Supplement**, v. 34, n. 34, p. 140–6, 2002.

OMETTO, L. et al. Inferring the effects of demography and selection on *Drosophila melanogaster* populations from a chromosome-wide scan of DNA variation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 22, n. 10, p. 2119–2130, 2005.

OUDEJANS, R. R. D.; MICHAELS, C. F.; BARKER, F. C. The effects of baseball experience on movement initiation in catching fly balls. **Journal of Sports Sciences**,

v. 15, n. 6, p. 587–595, 1997.

PIERARD, M. et al. Evolving protocols for research in equitation science. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 10, n. 3, p. 255–266, 2015.

PILLOT, M. H.; DENEUBOURG, J. L. Collective movements, initiation and stops: Diversity of situations and law of parsimony. **Behavioural Processes**, v. 84, n. 3, p. 657–661, 2010.

PROFILE, S. E. E. A novel test for evaluating horses' spontaneous visual attention is predictive of attention in operant learning tasks. **The Science of Nature**. p. 480–486, 2017.

RANGE, F. et al. Social attention in keas, dogs, and human children. **Animal Cognition**, v. 12, n. 1, p. 181–192, 2009.

ROCHAIS, C. et al. A novel test for evaluating horses' spontaneous visual attention is predictive of attention in operant learning tasks. **Die Naturwissenschaften**, v. 104, n. 7–8, p. 61, 2017.

SCHALLER, G. B. The mountain gorilla: ecology and behaviour. **University of Chicago Press**. 2000.

SELTMANN, A. et al. Recruitment and monitoring behaviors by leaders predict following in wild Barbary macaques (*Macaca sylvanus*). **Primate Biology**, v. 3, n. 2, p. 23–31, 2016.

SENGUPTA, S. et al. Uncertainty modulated exploration in the trade-off between sensing and acting. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, 2018.

SPIRDUSO, W. W. et al. Reactive capacity: A sensitive behavioral marker of movement initiation and nigrostriatal dopamine function. **Brain Research**, v. 335, n. 1, p. 45–54, 1985.

TOMASSINI, A.; MORRONE, M. C. Perceived visual time depends on motor preparation and direction of hand movements. **Scientific Reports**, v. 6, n. June, 2016.

VAN ERCK-WESTERGREN, E.; FRANKLIN, S. H.; BAYLY, W. M. Respiratory diseases and their effects on respiratory function and exercise capacity. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 3, p. 376–387, 2013.

WATHAN, J.; MCCOMB, K. The eyes and ears are visual indicators of attention in domestic horses. **Current Biology**, v. 24, n. 15, 2014.

WICKHAM, H. **gplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. New York: Springer-

Verlag, 2016.

WILLIAMSON, L. H. et al. Biochemical changes in Three-day-event horses at the beginning , middle and end of Phase Cand after Phase D. p. 92–98, 1996.

WOOLF, A.; O'SHEA, T.; GILBERT, D. L. Movements and behavior of bighorn sheep on summer ranges in Yellowstone national park. **Journal of Wildlife Management**, v. 34, n. 446–450, 1970.

YAMAMOTO, Y.; HUGHSON, R. L.; PETERSON, J. C. Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 71, n. 3, p. 1136–1142, 1991.