

**UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES**  
**PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PARÂMETROS SANGUINEOS E ELETROCARDIOGRAFICOS EM  
MUARES SUBMETIDOS A TESTE DE MARCHA EM CONDIÇÕES  
TROPICAIS**

**GABRIELLA AGRA DE OMENA E SILVA**

**VILA VELHA**  
**MAIO / 2018**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA- ES**  
**PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PARÂMETROS SANGUINEOS E ELETROCARDIOGRAFICOS EM  
MUARES SUBMETIDOS A TESTE DE MARCHA EM CONDIÇÕES  
TROPICAIS**

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para obtenção grau de Mestra em Ciência Animal.

**GABRIELLA AGRA DE OMENA E SILVA**

**VILA VELHA**  
**MAIO, 2018**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

S586p Silva, Gabriella Angra de Omena e.  
Parâmetros sanguíneos e eletrocardiográficos em mueres  
submetidos ao teste de marcha em condições tropicais / Gabriella  
Angra de Omena e Silva. – 2019.  
41 f.

Orientador: Betânia Souza Monteiro.  
Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade  
Vila Velha, 2019.  
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Cavalo – Raça. 3. Cavalo –  
Treinamento. I. Monteiro, Betânia Souza. II. Universidade Vila  
Velha. III. Título.

CDD 636.89

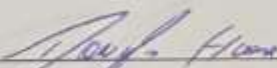
GABRIELLA AGRA DE OMENA E SILVA

PARÂMETROS SANGUINEOS E ELETROCARDIOGRAFICOS EM  
MUARES SUBMETIDOS A TESTE DE MARCHA EM CONDIÇÕES  
TROPICAIS

Dissertação apresentada a Universidade  
Vila Velha, como pré-requisito do  
Programa de Pós-graduação em Ciência  
Animal, para obtenção do título de  
Mestra em Ciência Animal.

Aprovada em 30 de maio de 2018,

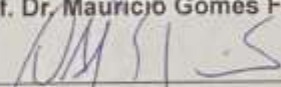
Banca Examinadora:



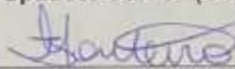
Prof. Dr. Douglas Haese (UVV)



Prof. Dr. Maurício Gomes Favoreto (UVV)



Prof. Dr. Odaet Spadeto Junior (UVV)



Profa. Dra. Betânia Souza Monteiro (UVV)

Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me possibilitar concluir esse novo ciclo.

Agradeço a minha família e ao meu namorado Vitor Ayub por todo apoio e motivação, em especial a minha mãe Sandra. Dedico esse título de Mestre a você!

Agradeço a minha orientadora Betânia de Souza Monteiro por aceitar essa empreitada comigo, me dando suporte e sempre a disposição para o que fosse preciso!

Agradeço a Clarisse Simões Coelho, por todo o estímulo, toda dedicação com o projeto e comigo desde o começo. Você teve papel fundamental nessa nova etapa!

Agradeço aos membros da banca Douglas Haese, Mauricio Gomes Favoreto e Odael Spadeto Junior por terem aceitado o convite instantaneamente!

Agradeço aos proprietários que tanto me ajudaram, em especial à Luciano Mauro Junior, dono da propriedade na qual foi realizado o experimento. Obrigada pela disponibilidade de sempre e por todo o carinho!

Obrigada aos colaboradores do projeto, sem vocês não seria possível, em especial a Laura Monteiro de Castro Conti e Leticia Marques!

Não posso deixar de agradecer aos nossos muares, por tanto nos ensinarem e nos mostrarem um pouco mais sobre eles!

Ninguém disse que seria fácil!

Meu muito obrigada a todos!

## RESUMO

SILVA, Gabriella, A, O., M.Sc. Universidade Vila Velha- ES, maio de 2018. **Parâmetros sanguíneos e eletrocardiográficos em muares submetidos ao teste de marcha em condições tropicais.** Orientadora: Betânia Souza Monteiro.

Poucas pesquisas foram feitas monitorando o condicionamento físico de muares. Portanto, há uma necessidade de definir índices de aptidão para tal espécie, que é comumente usada para atividades esportivas e trabalho a campo em condições tropicais. O objetivo deste estudo foi avaliar influência de um teste a campo de marcha sobre parâmetros sanguíneos e eletrocardiográficos de muares. Dez muares,  $4,7 \pm 1,3$  anos e  $405,7 \pm 35,7$  kg, foram utilizadas no estudo. Frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura corporal (TC) e coleta de sangue foram obtidas antes (T0) e imediatamente após o exercício (T1), aos 30 minutos (T2) e 120 minutos (T3) de recuperação. A análise sanguínea incluiu eritrograma, leucograma, aspartato aminotransferase sérica (AST), creatina quinase (CK), proteína total (PT) e triglicérides, além de lactato e glicose plasmáticos. As variáveis eletrocardiográficas foram analisadas em T0, T1 e T2. Todas as variáveis foram analisadas quanto à normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e as comparações foram feitas pelo teste de Tukey, considerando-se  $p < 0,05$ . O exercício físico alterou significativamente os parâmetros fisiológicos e sanguíneos, com maiores valores registrados em T1, exceto para CK, PT, VCM, CHCM, leucometria e contagem de monócitos e eosinófilos. Ritmo sinusal ocorreu em 100% dos muares em todos os períodos de avaliação. Registros de ECG mostraram aumento significativo da FC com valores médios de  $40,8 \pm 16,8$  bpm em repouso,  $65,4 \pm 10,6$  bpm em T1 e  $45,2 \pm 5,6$  bpm em T2. Outros achados incluíram reduções significativas em T1 para durações de QRS e intervalos PR e QT, e aumento significativo em T2 para a amplitude da onda P. Foi possível concluir que a marcha gerou alterações importantes em muares fisicamente condicionados e os resultados diferiram em vários aspectos dos valores registrados para asininos e equinos, reforçando a importância da obtenção de valores específicos e evitando comparações inválidas entre equídeos.

**Palavras-chave:** eletrocardiográfico, equídeos, exercício, marcha.

## ABSTRACT

SILVA, Gabriella, A. O, M.Sc. Universidade Vila Velha- ES, Maio de 2018. **Blood and electrocardiographic parameters in mules submitted to a marcha field test under tropical conditions.** Orientadora: Betânia Souza Monteiro.

Little research has been done monitoring fitness of mules. Therefore, there is a need to define fitness indices for such species that is commonly used for work and athletic purposes under tropical conditions. So, the aim of this research was to evaluate the influence of a field marcha test on blood and electrocardiographic parameters of mules. Ten mules,  $4.7 \pm 1.3$  years old and  $405.7 \pm 35.7$  kg were used in the study. Heart rate (HR), respiratory rate (RR), body temperature (BT) and blood sampling were obtained before (T0) and immediately after exercise (T1) and at 30 minutes (T2), and 120 minutes (T3) of recovery. Blood analysis included erythrogram, leukogram, serum aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), total protein (TP) and triglycerides and plasma lactate and glucose. Electrocardiographic variables were analyzed at T0, T1 and T2. All variables were analyzed for normality through Kolmogorov–Smirnov test, and comparisons were made using the Tukey test, considering P .05. Exercise testing significantly altered physiological and blood parameters, with higher values recorded at T1, except for CK, TP, MCV, MCHC, WBC and monocytes and eosinophils count. Sinus rhythm occurred in 100.0% of horses at all evaluation periods. ECG records showed a significant increase in HR with mean values of  $40.8 \pm 16.8$  beats/minute at rest,  $65.4 \pm 10.6$  beats/minute in T1 and  $45.2 \pm 5.6$  beats/minute in T2. Other findings included significant reductions in T1 for QRS durations and PR and QT intervals, and significant increase in T2 for P wave amplitude. It was possible to conclude that the marcha gait led to important alterations physically well-conditioned mules and results differed in several aspects from values recorded for donkeys and equines, reinforcing the importance of obtaining specific values avoiding invalid comparisons between equids.

**Keywords:** electrocardiograph; equids; exercise; marcha

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	03
2.1 <i>Muares</i> .....	03
2.2 <i>Marcha</i> .....	05
2.3 <i>Análise da Performance atlética</i> .....	06
2.3.1 <i>Exames físicos</i> .....	06
2.3.2 <i>Exames laboratoriais</i> .....	08
2.3.3 <i>Eletrocardiograma – ECG</i> .....	11
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	12
<b>4. CAPÍTULO</b> .....	13
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	31



## 1. INTRODUÇÃO

Os muares advêm do cruzamento aleatório de jumentos (*Equus africanus asinus*) com éguas (*Equus ferus caballus*). O desenvolvimento da mineração nos séculos XVIII e XIX nas Minas Gerais fez crescer a preferência por muares para atender àquela atividade, vencer as grandes distâncias rumo à Corte, manter a convivência entre as populações do campo e das cidades, suprir às necessidades básicas das famílias e transportar a produção da terra (ABCJPEGA, 2018). São animais rústicos, resistentes, além de possuírem maior aproveitamento de dietas de baixa qualidade por apresentarem necessidades energéticas diferentes de equinos. Os muares herdaram a resistência dos asininos, principalmente no que diz respeito ao grande senso de sobrevivência, e dos equinos, seu andamento, massa corpórea e seu comodismo.

Muare domésticos são animais que estão se tornando cada vez mais valorizados. Seus ancestrais asininos evoluíram para sobreviver em ambientes montanhosos semiáridos, com fontes de alimento e água em escassez. Estes animais, além de serem largamente utilizados na lida diária de transporte e na agricultura, são fornecedores de carne ao mercado dos países consumidores, especialmente os asiáticos, representando uma fonte alternativa e complementar para a economia. Desde a domesticação, os muare foram, e ainda são usados para trabalho. Numa escala crescente, vêm sendo utilizados em provas atléticas.

No Brasil, os muare são usados em cavalgadas e concursos de marcha e provas funcionais. Com o intuito de valorizar e mostrar as diversas qualidades e capacidades dos muare Pêga, a Diretoria da Associação Brasileira dos Criadores de Jumento Pêga (ABCJPÊGA, 2018) decidiu criar as diferentes modalidades de provas funcionais de marcha, onde avaliam-se estilo, regularidade, rendimento, comodidade e resistência; e a prova de Maneabilidade, que tem por finalidade mostrar a versatilidade do muar Pêga no trabalho do dia a dia, uso de embocadura e arreamento livres. Tais provas são caracterizadas como exercícios de baixa intensidade e longa duração. Para se obter o máximo desses animais, sem prejudicar seu bem-estar é necessário conhecer suas respostas orgânicas frente ao desafio da atividade atlética. Entretanto, pouco se sabe sobre a fisiologia e o metabolismo dessa espécie. Achados laboratoriais em muare muitas das vezes são comparados com os valores de referência em equinos e asininos, o que pode ser uma comparação inválida, pois

essas espécies têm diferenças marcantes.

Assim, nota-se a necessidade do desenvolvimento de pesquisas, visando estabelecer padrões para a raça, o que permitirá a correta interpretação de exames clínicos, visando o aperfeiçoamento de programas de treinamento físico, adequação de protocolos nutricionais, melhora do condicionamento físico e, principalmente, garantir o bem-estar de muarees usados em provas atléticas. (PEREIRA NETO et al. 2013).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Muares

Os muares são animais oriundos do cruzamento aleatório do *Equus ferus caballus* com o *Equus africanus asinus*. São de grande popularidade no meio rural e urbano devido a sua rusticidade e vigor físico. São animais capazes de executar trabalho em diferentes tipos de terrenos, com declive e aclave, e se adéquam aos diferentes tipos de clima presente no Brasil (De OLIVEIRA, 2004).

Os muares se sobressaem em relação aos asininos devido ao porte maior, herdado da espécie materna (equino) e possuem maior destreza e prudência em ambientes inóspitos do que os equinos, por serem animais mais atentos, característica herdada da espécie paterna (asinino). Esses animais, de acordo com Araújo et al. (2014), têm maior capacidade de sobrevivência em ambientes adversos e apresentam maior resistência ao trabalho.

De acordo com Suprinyak (2008), o transporte do Brasil do século 19 se deu através de muares. Após a introdução desses animais na estrutura econômica brasileira durante o período colonial, os muares se tornaram o meio de transporte por excelência das regiões não litorâneas do Brasil Imperial. As culturas do café e da cana-de-açúcar dependeram de maneira funcional dos serviços das tropas, tanto para o escoamento da produção, quanto para o abastecimento regional com gêneros de outras localidades.

Os muares, além de serem largamente utilizados na lida diária de transporte e na agricultura, ao atingirem uma idade avançada são fornecedores de carne ao mercado dos países consumidores, especialmente os asiáticos, representando uma fonte alternativa e complementar para a economia. Da mesma forma que os cavalos, os asininos e os muares são utilizados como atletas em diversas provas, destacando-se aquelas onde se avalia o andamento e as provas de resistência, conhecidas como cavalgadas. Nestas últimas, os animais são submetidos à exercício de intensidade submáxima e longa duração (RIBEIRO et al., 2004).

Para a produção dos muares, várias raças de asininos e equinos podem ser utilizadas nos cruzamentos, de acordo com a finalidade que o híbrido será destinado. Podem ser obtidos animais para trabalho, andamento e beleza (ARAÚJO et al., 2014). As principais raças de asininos usadas na formação de muares são o jumento Paulista ou Brasileiro, o jumento Pêga e o jumento Nordestino. É importante

ressaltar que nem sempre existiram jumentos no país. Os asininos chegaram ao Brasil com os colonizadores portugueses, juntamente aos equinos. Dessa forma, se formou em território nacional a raça chamada Nacional ou Paulista. Esta raça que, como o nome já diz, é de origem do estado de São Paulo. Há uma semelhança com a raça Pêga em relação à aptidão para o trabalho, a altura, e o lombo curto e musculoso. Os animais dessa raça podem ser utilizados para montaria, carga ou tração (McMANUS et al., 2010; REDAÇÃO RURAL NEWS, 2015). A raça Pêga é considerada genuína para o andamento, que gera animais marchadores quando cruzada com raças equinas que também se destinam a essa finalidade. É um animal versátil que pode ser destinado a transporte de cargas, preparo do solo, trabalho com bovinos, cavalgadas, provas funcionais, concursos de marcha, dentre muitas modalidades.

Em relação às raças das éguas a serem utilizadas nos cruzamentos, há grande diversidade nas possibilidades, de acordo com o que se busca do animal. A raça de éguas Quarto de Milha tem sido muito utilizada no cruzamento com asininos para a produção de muares. Essa raça foi a primeira a ser desenvolvida na América, e foi formada nos Estados Unidos aproximadamente no ano de 1600. Os animais Quarto de Milha são compactos, com músculos fortes, têm habilidade de correr distâncias curtas mais rapidamente do que outras raças. Esse animal é especialista no trabalho com bovinos e é considerado versátil, dócil, rústico e inteligente. A raça Mangalarga Marchador também tem sido amplamente usada para a produção de muares. De acordo com Gonçalves et al. (2012), é a raça equina brasileira mais numerosa e está distribuída em todo o país. Originária do sul de Minas Gerais, o Mangalarga Marchador apresenta como característica padrão a marcha, que é um andamento natural e simétrico, com apoios alternados dos bípedes laterais e diagonais, intercalados por momentos de tríplex apoio. Esses movimentos fazem com que o andamento seja suave e confortável ao cavaleiro. Além dessa característica principal, essa raça também apresenta temperamento ativo e dócil, resistência, inteligência e rusticidade. Devido às características mencionadas, muares filhos de éguas dessa raça são muito valorizados pelo andamento marchado, e são considerados excelentes animais de sela (ABCCMM, 2018; SANTIAGO, et al., 2014). Outra raça de éguas muito utilizadas no cruzamento com asininos é a raça Campolina. Esta é uma raça de origem nacional de equinos marchadores, proveniente do estado de Minas Gerais e começou a ser selecionada por volta de 1870. A raça apresenta porte nobre, formas harmoniosas, traços

curvilíneos e estrutura óssea muscular que favorece o andamento marchado. Sua funcionalidade pode estar baseada na harmonia das medidas e nas proporções lineares de seu corpo. Na produção de muares resultam em animais de porte grande, fortes e marchadores (ABCCC, 2018; LUCENA et al., 2016).

## *2.2 Marcha*

As pesquisas na área de fisiologia do exercício se fazem necessárias para compreender de que forma o treinamento e as competições influenciam nas variáveis fisiológicas e bioquímicas de cada espécie (MARQUES et al., 2002). Existem diversos estudos na literatura (MARTINS et al., 2005; FRANCISCATO et al., 2006; GOMIDE et al., 2006; KOWAL et al., 2006; PRITCHARD et al., 2009) avaliando a performance de equinos em diferentes modalidades atléticas, inclusive a marcha. Porém, de acordo com (RIBEIRO et al., 2004; PEREIRA NETO et al., 2013; PEREIRA NETO et al., 2014) são escassos os que estudam muares trabalhados em condições tropicais

A marcha compreende um teste exaustivo sem similar em todo o mundo, no qual o animal realiza um exercício de longa duração, com grande gasto energético, num percurso em círculo, sem repouso e em velocidade constante (REZENDE, 2006). Segundo a Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Mangalarga Marchador (ABCCMM), a marcha é um andamento natural, simétrico, de quatro tempos, com apoios alternados dos bípedes laterais e diagonais, intercalados por momentos de tríplice apoio. É um andamento singular em que o animal nunca perde o contato com o solo, diferente do trote onde o equino, na troca dos apoios, apresenta suspensão dos quatro membros.

Testes de esforço físico podem ser conduzidos tanto em esteiras ou a campo. De acordo com Evans (2008), existem vantagens e desvantagens em ambos; no entanto, o exercício à campo assemelha-se mais as condições de competição. Para Marlin e Nankervis (2002), os testes de desempenho à campo são mais específicos e realistas, principalmente se forem similares às condições da competição. Evans (2008) ainda relatou que o teste deve ser fácil de executar e não deveria atrapalhar a rotina de treinamento, concordando com Van Erck et al. (2007), que defendem as vantagens de se recriar condições familiares de exercícios àquelas encontradas durante sessões de treinamentos rotineiros e competições.

## *2.3 Avaliação de performance atlética*

### *2.3.1 Exames físicos*

A mensuração da frequência cardíaca (FC) tem sido usada em cavalos atletas para descrever a intensidade do exercício e para estudar os efeitos do treinamento e perda de condicionamento (HODGSON e ROSE, 1994). Segundo Clayton 1991, a frequência cardíaca (FC) do equino em repouso pode variar de 25-50 batimentos por minuto (bpm), dependendo do tamanho, raça, idade e temperamento do animal, podendo atingir rapidamente 100 bpm por excitação, medo, dor e em antecipação ao exercício. A frequência cardíaca no repouso se relaciona com a superfície corporal, o índice metabólico e o balanço autonômico próprio da espécie, raça e indivíduo, podendo-se observar variação devido à excitação durante o exame (BABUSCI e LÓPEZ, 2007). Com o exercício físico, a demanda circulatória aumenta e o coração proporciona maior volume circulante por minuto através do aumento da frequência cardíaca e do aumento da força de contração (MENDES, 2004). Durante o exercício, de acordo com Evans (2000), é esperado um aumento da FC no início do exercício para suprir a demanda de oxigênio dos músculos, e, por esse motivo, um período de aquecimento sempre é necessário antes de qualquer exercício. A FC aumenta de acordo com a intensidade do exercício até atingir um platô, no qual o aumento da velocidade não será acompanhado pelo aumento da frequência cardíaca, sendo caracterizada a frequência cardíaca máxima (FCmax), que é geralmente na faixa de 210-240 bpm. O treinamento produz alterações adaptativas na FC durante o exercício. Segundo Babusci e López (2007), um equino treinado deve ser capaz de desenvolver determinada velocidade a uma frequência cardíaca inferior à desempenhada antes de iniciar o treinamento. Boffi (2007) afirmou que as alterações observadas na FC constituem um índice conveniente para medir o aprimoramento induzido pelo treinamento.

O sistema respiratório é considerado o maior fator limitante para o bom desempenho dos equinos, pois o treinamento não produz respostas adaptativas significativas, como as que ocorrem nos sistemas cardiovascular e musculoesquelético (AINSWORTH, 2008). Além do transporte de oxigênio (O<sub>2</sub>) e gás carbônico (CO<sub>2</sub>), o sistema respiratório desempenha funções essenciais durante um exercício, como umidificação, aquecimento e filtração do ar inspirado, regulação ácido-básica, termorregulação e síntese, liberação, modificação, inativação e remoção de substâncias bioativas. A frequência respiratória (FR) é expressa pelo número de movimentos respiratórios por minuto (mpm). Os cavalos têm uma FR em

repouso que varia de 12-20 mpm (SILVA et al., 2005). De acordo com Clayton (1991), muitos fatores como exercício, dor e aumento na temperatura corporal elevam a FR e mudam o padrão respiratório. Esse mesmo autor afirmou que, durante o exercício, a FR pode aumentar para mais de 180 mpm, sendo que ao passo e até certa extensão de trote, o cavalo adota uma FR apropriada à intensidade do exercício e ao se iniciar o exercício sua FR aumenta rapidamente de acordo com a necessidade corporal de O<sub>2</sub>. Quando o exercício cessa, a FR diminui devido à parada das forças locomotoras que guiam a respiração. Normalmente, o cavalo respira profundamente algumas vezes e então a FR se mantém entre 60-100 mpm, até que o débito de O<sub>2</sub> se equilibre. Atingido este equilíbrio, a resposta respiratória depende diretamente da temperatura corporal do cavalo. Se o animal estiver frio, a FR declina gradualmente aos valores de descanso. Se houver hipertermia, o cavalo ofegará como um mecanismo de perda de calor.

O sistema termo regulatório controla a temperatura corporal, alterando o fluxo de calor entre o animal e o ambiente. A temperatura retal (TR) de um equino normalmente varia entre 37,2°C e 38,6°C, com valores médios de 38,0°C. A taxa de aumento de calor durante o exercício depende da duração e intensidade do mesmo, da temperatura ambiente e umidade, além do estado de hidratação do cavalo. A temperatura retal atinge picos em torno de 10 minutos após o fim de exercícios extenuantes, ficando em torno de 39-40°C depois do exercício e deve diminuir nos 10 a 20 minutos seguintes (CLAYTON, 1991). McConaghy (1994) e McCutcheon e Geor (2008) relataram que o exercício causa um maior desequilíbrio no balanço térmico porque a energia utilizada para a contração muscular é proveniente da conversão de energia química estocada em energia mecânica, processo este relativamente ineficiente, pois cerca de 75-80% da energia liberada é perdida na forma de calor. Por estes motivos, ocorre um aumento da temperatura corporal e no interior do músculo. Se este calor não for dissipado, a temperatura corporal pode se elevar a níveis ameaçadores à saúde. Os mecanismos fisiológicos que promovem a dissipação de calor são essenciais para o bom desempenho do um animal atleta. Dos vários mecanismos de transferência do calor (condução, convecção, radiação e evaporação), a evaporação do suor é o mecanismo mais importante e, segundo McConaghy (1994) e McCutcheon e Geor (2008), a evaporação também pelo trato respiratório. O resfriamento evaporativo é um mecanismo eficiente que permite ao cavalo realizar eventos atléticos com pequenas elevações na temperatura corporal. Paludo et al. (2002) citaram que os elementos ambientais que mais afetam a

temperatura corporal são temperatura e umidade do ar, radiação e vento. Sob estresse térmico, os equinos apresentam os seguintes sinais: aumentos da FC e da FR, sudorese, vasos periféricos aparentes na superfície corpórea e aumento da TR. Esta última nos permite avaliar se os animais estão conseguindo manter sua temperatura dentro dos limites normais em condições de estresse térmico. Animais adaptados à ambientes quentes apresentam adaptações nos mecanismos dissipatórios de calor promovendo estabilidade cardiovascular, decréscimo na taxa de calor estocada, e aumento na duração do exercício antes da fadiga. A cor da pelagem e o tamanho dos pêlos podem influenciar na termorregulação dos equinos. A cor afeta a quantidade de radiação solar absorvida e pelos longos podem limitar a perda de calor por evaporação (McCUTCHEON e GEOR, 2008).

### *2.3.2 Exames laboratoriais*

Dentre os exames complementares mais usados na medicina esportiva equina destacam-se as provas de avaliação da função muscular (FRANCISCATO et al., 2006; SALES, 2013). As principais enzimas avaliadas são a creatinaquinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH) (ZOBA et al., 2011).

A CK é uma enzima de alta especificidade para lesões musculares, encontrada principalmente no citosol das células musculares (músculos esquelético e cardíaco) (VALBERG, 2008). Segundo Thomassian et al. (2007), CK é uma enzima de mais rápida liberação na circulação, onde o pico de liberação ocorre de 4-6 horas após o exercício ou lesão, com retorno aos níveis normais com 24-36 horas.

A AST é uma enzima que se encontra em altas concentrações nas células hepáticas e no músculo cardíaco e esquelético. Segundo Valberg (2008), a concentração sérica de AST apresenta seu pico após 24 horas, e pode se manter elevada por 5 dias ou até algumas semanas. Alterações patológicas estão relacionadas com elevações superiores a 100% da AST após o exercício, independentemente da intensidade de exercício ou do nível de condicionamento do animal, segundo HARRIS (1998). A AST é uma enzima mitocondrial e citossólica. Por ser mitocondrial, necessita de uma lesão maior no tecido para que seja liberada para corrente sanguínea, diferente das enzimas CK e LDH que, por sua vez, são citossólicas e de tamanho pequeno conseguindo ultrapassar a membrana celular mesmo que o dano tecidual não seja tão grande (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).



Os níveis séricos dessas enzimas aumentam quando ocorre lesão muscular esquelética e cardíaca (CORRÊA et al., 2010). O aumento das concentrações séricas também ocorre após atividade física. Normalmente animais bem adaptados à atividade física têm menor aumento dessas enzimas com retorno mais rápido aos valores basais após encerrada a atividade física (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Binda et al. (2016) não obtiveram alterações significativas na CK sérica durante a prova de tambor nos equinos da raça Quarto de Milha e os valores encontrados foram  $268,6 \pm 119,5$  UI/L em repouso e  $317,1 \pm 116,6$  UI/L imediatamente após o exercício. Esse achado foi observado em outras modalidades atléticas. A não alteração nas concentrações séricas de CK sugere que estes animais estavam adaptados ao programa de exercícios e não apresentaram lesão muscular.

De acordo com Pereira Neto et al. (2013), a avaliação das atividades séricas de AST, LDH e CK, frente ao exercício, tornou-se um grande desafio devido à diversidade na literatura consultada referente aos valores de repouso e valores registrados após a realização de uma atividade física, principalmente em se tratando de muares devido à escassez de dados. Etana et al. (2011) caracterizam como inválidas as comparações dos valores registrados em muares com outras espécies de equídeos. Pereira Neto et al (2013) não observaram aumento de CK em muares pós exercício físico, ao contrário de AST e LDH, os quais tiveram um aumento significativo no pós exercício.

A mensuração do lactato tem sido sugerida em trabalhos com equinos e humanos como um indicador da capacidade de resistência aeróbia dos atletas, pois animais com grande capacidade aeróbia geralmente tem baixas elevações na concentração de lactato em resposta ao exercício. A taxa de declínio que ocorre pós exercício pode ser um índice útil de aptidão, visto que concentrações persistentemente elevadas podem sugerir fadiga metabólica (HINCHCLIFF et al., 2004; VALBERG, 2008), concordando com Pösö (2002), no que diz respeito a animais não condicionados. Segundo González e Silva (2006), os valores basais de referência do lactato para equinos oscilam entre 1,1 e 1,8 mmol/L. Exercícios de alta intensidade e de curta duração levam a níveis plasmáticos de lactato acima de 4,0 mmol/L, sugerindo predominância na produção de energia pela via anaeróbia. Exercícios de intensidade submáxima levam a aumentos de plasma abaixo de 4,0 mmol/L, indicando a produção de energia aeróbia (BINDA et al., 2016; FALASCHINI e TROMBETTA, 2001). Binda et al. (2016) encontraram valores de 11,39 mmol/L imediatamente após provas de três tambores, um aumento significativo quando

comparado com os valores no pré-exercício. De acordo com os autores, esse aumento é esperado para a atividade envolvida, ultrapassando o limiar anaeróbio de 4 mmol/L, indicando maior envolvimento das vias anaeróbias na produção de energia, compatível com o exercício máximo. Já Gama et al. (2012), trabalhando com cavalos da raça Mangalarga Marchador, obtiveram valores de 2,73 mmol/L de lactato no pós exercício, indicando a predominância de metabolismo aeróbico, visto que o valor do lactato foi inferior a 4,0 mmol/L.

De acordo com Aluja 1998, o cortisol age no fígado aumentando a síntese de enzimas que convertem aminoácidos em glicose dentro dos hepatócitos (gliconeogênese). A maior parte dessa glicose que foi recém formada, cai na circulação sanguínea, ocasionando um aumento nos valores de glicose no sangue. Desta forma, pode-se concluir que o cortisol facilita uma adaptação do organismo a situações estressantes, incluindo o tempo gasto desde o manejo até o momento do exercício e pós exercício, bem como em situações da trabalho. Ribeiro et al. (2004) em um estudo com muare e equinos submetidos a esforço físico, encontrou uma diminuição da glicemia no final do primeiro dia de prova, concluindo que a glicose é utilizada durante o exercício, porém, sabe-se também que a queda da glicemia pode ser explicada pela ausência da alimentação durante o exercício físico. No início dos demais dias de prova, foram notados novamente um aumento da glicemia, conseqüentemente da gliconeogênese, devido ao maior requerimento energético para manutenção da atividade muscular, corroborando com os resultados encontrados por LUCKE & HALL (1978), ROSE & HODGSON (1994) e TOLEDO et al. (2001). Os ácidos graxos são grandes fontes energéticas durante o exercício, fornecendo mais de 90% do requerimento total de energia. Uma alta concentração plasmática de ácidos graxos tem sido relatada em eqüinos que realizam exercícios de longa duração e de curta duração. Em um estudo realizado com equinos da raça Puro Sangue Arabe por Orozco et al. 2007, foram observados um aumento gradual dos triglicerídeos durante o aumento do esforço físico nos dois grupos de treinamento, fato que é explicado devido à necessidade de energia durante o exercício e provavelmente porque um processo oxidativo de ácidos graxos, que atuam como precursores dos triglicerídeos, é iniciado no músculo esquelético (Rose, 1986), semelhante ao que ocorre em animais que se encontraram em jejum.

### 2.3.3 Eletrocardiograma - ECG

O eletrocardiograma (ECG) tem sido usado na avaliação da performance atlética, no acompanhamento do treinamento físico e seus excessos, e na identificação de distúrbios cardíacos, sendo associado a um exame físico criterioso (DINIZ et al., 2008; MARR e BOWEN, 2010). É um exame pouco oneroso, não invasivo e de fácil execução, que fornece informações quanto à frequência e ritmo cardíaco (ALBERNAZ et al., 2011). De acordo com Fregin, 1985, o ECG foi reconhecido como um dos mais importantes meios de diagnóstico para avaliar os distúrbios na gênese e propagação do impulso cardíaco, por ser o mais preciso método à nossa disposição para documentar a arritmia cardíaca e anormalidades de condução.

De acordo com ILLERA et al. (1987) e FERNANDES et al. (2004), os padrões dos parâmetros eletrocardiográficos são de acordo com a espécie e com a raça, em decorrência da morfologia e da aptidão física de cada animal. Alguns estudos já foram realizados com animais no repouso, visando estabelecer essas diferenças raciais, dentre os quais destacam-se pesquisas feitas em equinos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) (FERNANDES et al., 2004), Mangalarga Marchador (DINIZ et al., 2008) e Crioulo (LISBOA et al., 2009), ressaltando que somente esse último utilizou animais atletas. Segundo YOUNG et al. (2007), o ECG no repouso tem validade limitada, pois distúrbios no ritmo cardíaco levando a queda de performance raramente manifestam-se durante o repouso, além do fato de algumas arritmias tenderem a aparecer no período de recuperação pós-atividade física, em decorrência das rápidas mudanças do controle.

Em um estudo realizado por Gaos et al, 2015 com equinos da raça mangalarga marchador, foram estabelecidos padrões eletrocardiográficos sob influencia da marcha. Foi possível afirmar que os marchadores da presente pesquisa não sofreram fadiga cardíaca, pois os valores registrados para QTc foram inferiores ao intervalo entre 450 ms e 500 ms, sugerido por SEVESTRE (1982) como sendo indicativo de fadiga leve do miocárdio, sendo possível sugerir o uso da eletrocardiografia no acompanhamento de programas de treinamento e avaliação do condicionamento atlético de equinos

### **3. OBJETIVOS**

O objetivo da presente dissertação de mestrado foi estabelecer parâmetros sanguíneos e eletrocardiográficos em muares sob influência da marcha em condições tropicais. O levantamento desses dados contribuirá para melhor compreensão dos efeitos desse exercício nos parâmetros cardiometabólicos e contribuir com dados sobre a fisiologia do exercício de muares utilizados nessa modalidade atlética que trabalham em condições tropicais.

## 4. CAPÍTULO

O artigo científico foi confeccionado seguindo as Instruções aos Autores estabelecidas pela revista Journal of Equine Veterinary Science, obtido no site: <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-equine-veterinary-science>

### **Blood and electrocardiographic parameters in mules submitted to a marcha field test under tropical conditions**

Gabriella A O Silva<sup>1</sup>, Letícia M Rodrigues<sup>1</sup>, Betania S Monteiro<sup>1</sup>, Vinicius R C de Souza<sup>2</sup>, Helio C Manso Filho<sup>3</sup>, Clarisse S Coelho<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Escola de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha (UVV-ES), Vila Velha-ES, Brazil; <sup>2</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-BA, Brazil; <sup>3</sup> Núcleo de Pesquisa Equina, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brazil; <sup>4</sup> Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-BA, Brazil.

### **Acknowledgements**

The project was approved by the Ethics Committee for Animal Use at the Vila Velha University (CEUA-UVV), Protocol 444/2017.

The authors have nothing to disclose.

No source of funding is declared.

### **Authorship**

Gabriella Silva contributed to the study design and execution, data collection and interpretation, and manuscript preparation. Clarisse Simões Coelho contributed to the study design, data interpretation and supervision. Leticia Rodrigues contributed to the execution. Betania Monteiro, Vinicius Souza and Helio Manso Filho contributed to data interpretation.

33 **Structured Abstract**

34 Background: Little research has been done monitoring fitness of mules. Therefore, there  
35 is a need to define fitness indices for such species that is commonly used for work and  
36 athletic purposes under tropical conditions.

37 Objectives: Evaluate the influence of a field marcha test on blood and  
38 electrocardiographic parameters of mules.

39 Methods: Ten mules,  $4.7 \pm 1.3$  years old and  $405.7 \pm 35.7$  kg were used in the study. Heart  
40 rate (HR), respiratory rate (RR), body temperature (BT) and blood sampling were  
41 obtained before (T0) and immediately after exercise (T1) and at 30 minutes (T2), and  
42 120 minutes (T3) of recovery. Blood analysis included erythrogram, leukogram, serum  
43 aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), total protein (TP) and  
44 triglycerides and plasma lactate and glucose. Electrocardiographic variables were  
45 analyzed at T0, T1 and T2. All variables were analyzed for normality through  
46 Kolmogorov–Smirnov test, and comparisons were made using the Tukey test,  
47 considering P .05.

48 Results: Exercise testing significantly altered physiological and blood parameters, with  
49 higher values recorded at T1, except for CK, TP, MCV, MCHC, WBC and monocytes  
50 and eosinophils count. Sinus rhythm occurred in 100.0% of horses at all evaluation  
51 periods. ECG records showed a significant increase in HR with mean values of  
52  $40.8 \pm 16.8$  beats/minute at rest,  $65.4 \pm 10.6$  beats/minute in T1 and  $45.2 \pm 5.6$  beats/minute  
53 in T2. Other findings included significant reductions in T1 for QRS durations and PR  
54 and QT intervals, and significant increase in T2 for P wave amplitude.

55 Conclusions: It was possible to conclude that the marcha gait led to important  
56 alterations physically well-conditioned mules and results differed in several aspects  
57 from values recorded for donkeys and equines, reinforcing the importance of obtaining  
58 specific values avoiding invalid comparisons between equids.

59

60 **Keywords:** electrocardiograph; equids; exercise; marcha

61

62 **INTRODUCTION**

63 Mules are the resulting offspring of a donkey stallion and a horse mare [1, 2] and they  
64 are the most significant cross in human history. Nevertheless, they are considered an

65 undervalued species, as donkeys [3, 4]. Usually, their conformation will be a  
66 combination of the best traits from both parents. Mules tend to be stronger and have a  
67 better endurance than horses combined with a steadfast disposition and a surefootedness  
68 of donkeys. Their overall body shape depends on the conformation of parents [2]. Very  
69 little is known about physiology and metabolism of mules and some authors consider  
70 them as a scientific enigma [1]. Comparisons made between mules, donkeys and  
71 equines are very common but considered invalid because they have unique  
72 physiological responses [1].

73 Generally, mules and donkeys are used for production purposes in the agricultural  
74 sector [4, 5, 6] as draught animals, transporting water, hay, and tools necessary for field  
75 activities [7, 8]. Actually, they can be used for the same sports as horses (saddle,  
76 cutting, roping or dressage). One particular aspect of mules outshines the horse that is  
77 high-jumping and, because of this, mules have their own sport called Coon Hunters  
78 Jump.

79 In Brazil and some other countries, mules have been also used for recreation and in  
80 cavalcades and marcha competition [9, 10, 11]. Marcha gait is a distinctive movement  
81 in which animals perform a long-term exercise, without rest and at a constant speed,  
82 with a great energy expenditure [12]. This specific equine discipline is executed mainly  
83 by Mangalarga Marchador and Campolina horses and also by Pêga and Brasileira  
84 donkeys [13]. As the horse mares usually determine the type of work mules will  
85 perform [1], females from these breeds are commonly used as sires of gaited mules. A  
86 jack showing a smooth singlefoot type gait is also desirable. Many researches have been  
87 done with Mangalarga Marchador horses to better understand how the marcha gait  
88 influences physiological parameters [12, 14, 15, 16, 17], but no studies have been done  
89 in gaited mules. Furthermore, little research has been carried out about mules' exercise  
90 physiology managed in hard conditions [9, 10, 11]. Therefore, the aim of this study was  
91 to evaluate the influence of a field marcha test on electrocardiographic patterns,  
92 erythrogram, leukogram, plasma lactate and glucose, and serum AST, CK, TP and  
93 triglycerides in mules trained under tropical conditions. This information will contribute  
94 to a better understanding of the effects of this particular exercise over cardiometabolic  
95 parameters and contribute to the welfare of mules used in tropical weather.

96

## 97 **MATERIAL AND METHODS**

98 The research project was approved by the Ethics, Bioethics and Animal Welfare  
99 Committee at the University Vila Velha (CEUA - UVV-ES) and recorded under the  
100 number 444/2017.

101 **Animals:** Ten mules (*Equus ferus caballus* x *Equus africanus asinus*), three males and  
102 seven females, were used, weighting  $405.7 \pm 35.7$  kg and with an average age of  $4.7 \pm 1.3$   
103 years (range 3 and 6 years old), all considered healthy in previous physical  
104 examinations at rest. These animals belong to properties located in Ibiracu-ES (LAT:  
105  $19^{\circ} 49' 55''$  South, LONG:  $40^{\circ} 22' 11''$  West), Brazil.

106 Animals underwent same food and health management. Diet consisted of Napier grass  
107 (*Pennisetum purpureum*), twice a day, and commercial feed (1.0kg/ 100kg body weight  
108 – Coope Equin, Coopeavi, Santa Maria de Jetibá, ES, Brazil) with 15% crude protein  
109 and 3,100 kcal energy, divided into two times daily. Inorganic mineral salt (Superfos  
110 Top Funcional Original, Nutriave, Viana, ES, Brazil) is offered twice a week and water  
111 was always available.

112 All mules used are considered gaited mules bred from Campolina or Mangalarga  
113 Marchador mares and Pêga donkeys. They had been in regular training for at least six  
114 months, consisting of 15 minutes of walking followed by 10 minutes of galloping and  
115 again 15 minutes of walking followed by 20 minutes of marcha gait on three alternate  
116 days. Nearby competitions, this training program is repeated daily. They were  
117 considered in a similar advanced training stage.

118 **Exercise:** Physical trials were performed in the morning, between 7 and 11AM, during  
119 Summer season, with local mean temperature of  $\sim 33.6^{\circ}\text{C}$  and mean relative humidity of  
120  $\sim 42\%$ , typical of tropical regions. The sand arena was dry during all evaluation days.  
121 Mules were evaluated in four days, being ridden by their usual riders (mean weight of  
122 80.0kg and mean height of 1.75m).

123 All mules executed a marcha field test for 40 minutes, 20 minutes clockwise and  
124 another 20 minutes counter clockwise, in a similar protocol established by Associação  
125 Brasileira de Jumento Pêga (ABCJPêga – Brazilian Association of Pêga Donkeys  
126 Owners), which is responsible for the determination of mules' racial patterns as well as  
127 the rules of marcha competition for mules.

128 **Blood collection and analysis:** From each animal, blood sampling was performed at T0  
129 (obtained before exercise, with the animal at rest after overnight fastening and inside the



130 box), T1 (obtained immediately after the end of exercise), T2 (obtained at 30 minutes of  
131 recovery) and T3 (obtained at 2 hours of recovery).

132 At each evaluation time, mules underwent a previously physical examination including  
133 heart (HR) respiratory rate (RR), and body temperature.

134 Blood samples were aseptically obtained by jugular vein puncture using disposable  
135 needles (25 mm x 0.8 mm), with a negative pressure system (4 ml capacity tubes  
136 containing K3-EDTA for determining the erythrogram and leukogram; 2 ml capacity  
137 tubes containing EDTA-sodium fluoride to determine plasma lactate and glucose; and 9  
138 ml capacity tubes without anticoagulant for determination of serum aspartate  
139 aminotransferase - AST, creatine kinase – CK, triglycerides and total protein). All  
140 samples were transported in a cooler with ice to the Clinical Laboratory of the  
141 Veterinary Diagnostic Center (CDV, Vitória, ES, Brazil), for immediate processing,  
142 with a mean interval of 2 hours between blood collection and laboratory analysis.  
143 Samples from the tubes with no anticoagulant and the ones containing EDTA-sodium  
144 fluoride were immediately centrifuged for 10 minutes (Centrifuge Model TDL80-2B,  
145 CentriBio, Curitiba, PR, Brazil) at 2000 g for separation of serum and plasma,  
146 respectively.

147 RBC count, hemoglobin concentration, packed cell volume (PCV), mean corpuscular  
148 volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and leukometry  
149 were measured by means of hematology analyzer (Coulter HmX Hematology Analyzer,  
150 Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Differential leukocyte count was done on a blood  
151 smear. All biochemical analysis was performed using commercial kits (Katal, São  
152 Paulo, SP, Brazil), by means of a semi-automatic biochemical analyzer (BIO200,  
153 Bioplus, Barueri, SP, Brazil).

154 **Cardiac evaluation:** Electrocardiograms, each lasting 3 minutes, were obtained from  
155 each animal at T0, T1 and T2, using a 12-channel ECG-PC electrocardiograph  
156 (Tecnologia Eletrônica Brasileira – TEB, São Paulo, SP, Brazil), being careful to keep  
157 animals with their limbs parallel to each other and perpendicular to body axis. Alligator  
158 clips fixed to electrocardiographic electrodes were attached directly to skin. Electrodes  
159 were placed on caudal aspect of forelimbs on the level of olecranon and on hind limbs,  
160 lateral to stifle joint to record bipolar leads I, II and III and unipolar leads aVR, aVF and  
161 aVL. All recordings were taken adjacent to the arena with the horse still saddled and  
162 without the rider. Tracings were obtained, recorded and standardized with N sensitivity

163 and 25mm s<sup>-1</sup> speed and bipolar lead DII was used for interpretation of  
164 electrocardiographic tracings. Evaluation of tracings involved measurement of P, R, and  
165 T wave amplitudes (in mV) and duration (in ms) of P wave, QRS complex, PR and QT  
166 intervals, as well as determining heart rate and rhythm. Corrected QT (QTc) was  
167 calculated according to Bazett's formula (QT/ $\sqrt{RR}$ ).

168 During the field test, mules and riders used a combined HR and GPS monitoring system  
169 (RS800CX-G3, Polar Electro, Lake Success, NY, USA) to record heart rate, speed and  
170 distance achieved by each animal. Data were analyzed using ProTrainer 5 program  
171 (Polar Electro, Lake Success, NY, USA). The equipment was previously used and  
172 validated in equids species [18].

173 **Statistical analysis:** Analyses of results were made using the GraphPad InStat 3.0  
174 statistical program (GraphPad, La Jolla, CA, USA) and results were expressed as mean  
175  $\pm$  SD (standard deviation). Blood data were evaluated for normality using the  
176 Kolmogorov-Smirnov test. Analysis of variance for repeated measures (One-Way  
177 ANOVA) followed by comparison between means (Tukey test) was done to evaluate  
178 the possible influence of exercise on studied variables. Values of  $p \leq 0.05$  were  
179 considered significant.

180

## 181 **RESULTS**

182 A significant effect of exercise was found for HR, RR and BT, and also for plasma  
183 lactate and glucose and serum triglycerides and AST values, with higher values  
184 recorded in T1 (Table 1). Marcha field test also influenced RBC count, hemoglobin  
185 concentration and PCV, with higher values in T1; indeed, it was possible to observe a  
186 neutrophilia and a lymphopenia in T3 (Table 2).

187 There were significant reductions in the duration of PR interval, QT interval and QRS  
188 complex and significant increase in HR after exercise; a significant increase was also  
189 observed in P wave amplitude in T2 (Table 3). Rhythm analysis revealed a sinus rhythm  
190 in 100.0% of mules in all evaluation times. Mean HR of 43.2 $\pm$ 17.8 beats/minute at rest,  
191 65.4 $\pm$ 12.6 beats/minute in T1 and 45.2 $\pm$ 5.6 beats/minute in T2 were observed.

192 Analysis of T wave polarity in T0 and T1 showed that 100.0% were diphasic; in T2,  
193 only one animal showed a positive monophasic T wave (amplitude of 0.41 mV) with the  
194 others 90.0% being diphasic.

195 Cardiac monitor registered an average speed of  $3.05\pm 0.05$  m/s, reaching a maximum  
196 speed of  $3.83\pm 0.06$  m/s, and an average heart rate of  $141.1\pm 24.6$  beats/minute, with a  
197 maximal HR of  $180.1\pm 33.7$  beats/minute. No signs of discomfort or reduced  
198 performance were observed during exercise execution.

199

## 200 **DISCUSSION**

201 To our knowledge, this is the first description of blood and electrocardiographic  
202 parameters in mules after a field marcha test. The standardized exercise test (SET) used  
203 for the gaited mules was the same that have been already used for Mangalarga  
204 Marchador horses [12, 14]. It proved to be efficient and simple for the evaluation of  
205 fitness in a more practical approach. A combined GPS/HR monitoring system allowed a  
206 better evaluation of mules' response to exercise.

207 Several significant changes were observed in physical, blood and ECG parameters of  
208 mules after the field marcha test. This particular equine discipline is characterized as an  
209 aerobic exercise of long duration and moderate intensity [14, 19] as plasma lactate  
210 values immediately after exercise were inferior than the anaerobic threshold of 4  
211 mmol/L [12]. Many researches have already been done evaluating the marcha gait in  
212 Mangalarga Marchador horses [12, 13, 14, 16, 17]. Mules used on this experiment are  
213 offsprings of Mangalarga Marchador mares and Pêga donkeys males and because of this  
214 they execute the marcha as their natural gait.

215 Modifications observed in physiological parameters (HR, RR and BT) after exercise  
216 corroborates with several findings in the literature in many different types of equine  
217 exercises [14, 20, 21, 22, 23, 24] and in equines and mules evaluated under rest and  
218 exercise conditions at low and high altitudes [8]. Elevation in HR was also described in  
219 mules after an endurance competition of 100 km [10] and values recorded at rest and  
220 after exercise were alike to those observed for the gaited mules after the marcha test.  
221 Tachycardia is attributed to the increased metabolic requirements of muscles during  
222 exercise and is dependent on physical effort [20]. Therefore, values observed in gaited  
223 mules in T1 were very inferior than those recorded for Quarter horses used in a 3-barrel  
224 racing test [21], which is considered a maximal exercise; but they were similar to those  
225 observed in Mangalarga Marchador after a similar field marcha test [14] and in  
226 crossbred horses used in Polo [23], both considered submaximal exercises. No

227 differences in HR were observed between horses and mules submitted to the same trial  
228 in low and high altitudes in Mexico [8].

229 Hyperthermia observed in T1 occurred due increased metabolism, as observed for  
230 horses [21]. Differently, Aluja et al. [7] didn't observe changes in body temperature in  
231 donkeys after two hours carrying heavy loads. These findings reinforce the differences  
232 between species, equestrian disciplines and exercises loads that must be considered  
233 when analyzing clinical findings. Values recorded at rest for HR, RR and BT were  
234 within normal values for mules [5].

235 Blood constituents are good indicators of physiological status and can be related to  
236 exercise challenge. However, published studies of mules' hematology are limited and a  
237 different set of reference ranges should be used when assessing a mule patient.  
238 Simenew et al. [5] established reference values for many physiological and blood  
239 parameters in 31 mules and found inferior values of RBC count ( $6.74 \times 10^6/\mu\text{L}$ ), PCV  
240 (35.36%) and hemoglobin concentration (13.02 g/dL) but higher values for MCV  
241 (52.64%) and MCHC (36.96 g/dL) when comparing to mean values recorded in T0. A  
242 recent study evaluating mules in a livestock market in central Mexico [25] described  
243 basal values for PCV of 32.3%, inferior than those found for the gaited mules in T0.

244 Significant elevations were observed for RBC count (~2.3%), PCV (~2.1%) and  
245 hemoglobin concentration (~2.7%) in T1 and these reflects a physiological adjustment  
246 necessary to guarantee correct oxygenation, provision of metabolites and removal of  
247 catabolites from muscles in activity [8, 26]. Additionally, RBC count can be increased  
248 in equids without loss of plasma volume by release from splenic reservoir [8].  
249 Alterations in gaited mules were less dramatic than those found for horses at maximal  
250 exercises [20, 21, 22, 27] and still inferior to findings in marchador horses in a similar  
251 field marcha test [28], suggesting a lower metabolic demand. Oppositely, a similar  
252 response in PCV and RBC count was observed in mules and horses under exercise in  
253 low and high altitudes, suggesting similar metabolic demands [8]. No changes were  
254 observed for hematological indices (MCV and MCHC), reflecting a homogeneous RBC  
255 population, differently to studies with Quarter horses [29]. Results differed from Pereira  
256 Neto et al. [11] that worked with mules in tropical conditions. In their study, significant  
257 alterations were observed only for hemoglobin concentration.

258 Similar values for WBC count were found between Simenew et al. [5] and the gaited  
259 mules in T0. Neutrophilia, lymphocytopenia and increase in N/L ration observed in T3

260 can be explained due effects of cortisol release associated with exercise, which is  
261 considered a stressful situation [30]. This response appears between 2 and 4 hours after  
262 the elevation of endogenous cortisol concentration [31] corroborating with the findings  
263 of the present research.

264 A significant elevation in plasma lactate (~45.0%) was observed after the trial. This  
265 increase was expected and can be related to the intensity of exercise and fitness of the  
266 animal [6, 10, 21, 32]. Marchador horses subjected to a similar field test (same speed  
267 and duration) showed a much higher elevation (~62.6%), reaching values of 2.73  
268 mmol/L [12], suggesting that mules performed the exercise with a lesser effort. Also,  
269 values found in T1 were inferior to those described for Quarter horses used for barrel  
270 racing [21] and jumping horses [24], all of them working in tropical conditions. Few  
271 researches have been done with mules in hard conditions. In one of them, Pereira Neto  
272 et al. [10] found maximal values of 2.41 mmol/L after 54 km of exercise. According to  
273 the authors, elevations observed were compatible with the level of imposed physical  
274 activity with predominance of aerobic metabolism. The higher values for plasma lactate  
275 observed by them can be due differences in speed and duration of physical efforts.  
276 Greene et al. [8] described different basal lactate levels between horses (0.65 mmol/L)  
277 and mules (0.93 mmol/L), with the last one very similar to this research. However,  
278 values varied similarly on both species following the SET done using a treadmill.

279 Simenew et al. [5] established some serum biochemical parameters and found out 79.58  
280 mg/dL for plasma glucose, similar to the 78.8 mg/dL found for the gaited mules. Mules  
281 presented the highest values for glucose concentration (81.33-123.84 mg/dL) during the  
282 period while they stayed at a livestock market [25]. According to the authors, this led to  
283 the most accentuated metabolic problems during the holding period in the corrals as  
284 simultaneously they presented hyperglycemia and hyperlactatemia (0.48-4.33 mmol/L).  
285 Both results were also observed after the field marcha test, but as a response to physical  
286 exercise which is considered a stressful stimulus stressor [6]. A high energy demand is  
287 caused by the physical effort leading to lipolysis and mobilization of triglycerides [33]  
288 with triglycerides values returning to basal levels as soon as the challenge ceases as  
289 observed for the gaited mules in T2.

290 Results of the present study showed significant changes for AST and similar findings  
291 have been described for horses in different activities as trotting, gallop and team roping  
292 [20, 34, 35] and mules used for a 100km-endurance [10], although it was not found in

293 donkeys after carrying loads in Mexico [7] and mules after an endurance competition of  
294 76 km in Brazil [9]. In spite of prolonged exercise, no significant modification was  
295 found in serum CK, similar to Ribeiro et al. [9] and Pereira Neto et al. [10], suggesting a  
296 satisfactory compensation to the physical activity and no muscle damage.

297 Recovery of physiological and blood parameters between 30 minutes and 2 hours of  
298 recovery have already been described in well-conditioned athletic horses [21, 24, 27,  
299 36] suggesting that mules used were well adapted to the imposed exercise.

300 As cited above, no researches were found in the veterinary literature describing ECG of  
301 healthy gaited mules. So, differences in duration, amplitude and morphology parameters  
302 are probably due to breed, species and type of exercise, reinforcing the importance of  
303 obtaining values for a specific species and breed. Values recorded at rest for most  
304 electrocardiographic variables (P wave duration, PR and QT interval and QRS duration)  
305 were superior to values described for Mangalarga Marchador horses in a similar SET  
306 [14] and for healthy donkeys [37], although a similar HR between mules (40.8  
307 beats/min) and marchador horses (45.7 beats/min). Donkeys showed a higher HR (52  
308 beats/min) which could explain lower intervals. When analyzing ECG, mules didn't  
309 show sinus tachycardia after exercise, as commonly observed for horses [14, 21, 24].  
310 Immediately after the trial, an increase in HR with reductions in PR and QT intervals  
311 were observed, both being inversely related to HR, corroborating with the findings in  
312 marchador horses, with exception of a significant reduction for P wave duration [14].  
313 Differently from Bello et al. [23] and Coelho et al. [14], no differences were observed  
314 for QTc suggesting that mules did not suffer cardiac fatigue.

315

## 316 **CONCLUSION**

317 Significant changes were observed in blood and electrocardiographic parameters in  
318 physically well-conditioned mules after a field marcha test. These reinforce the  
319 importance of obtaining normal responses to a specific physical effort to better evaluate  
320 performance, physical conditioning, efficiency of training and feeding protocols as well  
321 as welfare of athletic equids. Additionally, results observed for the studied parameters  
322 differed in several aspects from values recorded for donkeys and equines. These  
323 justifies the importance of obtaining specific values for mules avoiding invalid  
324 comparisons with other equids.

325

326 **REFERENCES**

- 327 [1] Burnham SL. Anatomical differences of the donkey and mule. In: Annual  
328 Convention of the American Association of Equine Practitioners, 48., Orlando, Florida,  
329 2002. *Proceedings...*: AAEP, 2002. p.102-109.
- 330 [2] Proops L, Burden F, Osthaus B. Mule cognition: a case of hybrid vigour? *Anim*  
331 *Cogn* 2009;12:75-84.
- 332 [3] Hameed A, Tariq M. Na assessment of welfare of working donkeys and mules using  
333 health and behaviour parameters in Punjab, Pakistan. *J Agric Sci Food Tech* 2016;2:69-  
334 74.
- 335 [4] Burden F, Thiemann A. Donkeys are different. *J Equine Vet Sci* 2015;35:376-382.
- 336 [5] Simenew K, Gezahegne M, Getashew M, Wondyefraw M, Alemayehu L, Eyob I.  
337 Reference values of clinically important physiological, hematological and serum  
338 biochemical parameters of apparently healthy working equids of Ethiopia. *Global Vet*  
339 2011;7:1-6.
- 340 [6] Lamba PS, Moolchandani A, Sareen M, Pal Y, Singh NK, Dagar KC, et al. Effect of  
341 load on biochemical parameters in mules. *Vet Sci* 2015;4:415- 418.
- 342 [7] Aluja AS, Bouda J, López A, Chavira H. Biochemical values in blood of donkeys  
343 before and after work. *Vet Mex* 2001;32:271-278.
- 344 [8] Greene HM, Hurson MJ, Wickler SJ. Haematological and respiratory gas changes in  
345 horses and mules exercised at altitude (3800 m). *Equine Exerc Physiol* 2006;36:551-  
346 556.
- 347 [9] Ribeiro CR, Martins EAN, Ribas JÁ, Germinaro A. Avaliação de constituintes  
348 séricos em equinos e muares submetidos à prova de resistência de 76 km, no Pantanal  
349 do Mato Grosso, Brasil. *Cienc Rural* 2004;34:1081-1086.
- 350 [10] Pereira Neto E, Araújo AL, Cunha LA, Barcellos MP, Spadeto Jr O, Coelho CS.  
351 Atividade sérica das enzimas musculares em muares submetidos à prova de resistência  
352 de 100 km. *Pesq Vet Bras* 2013;33:1385-1389.
- 353 [11] Pereira Neto E, Araújo AL, Cunha LA, Barcellos MP, Spadeto Jr O, Coelho CS.  
354 Eritrograma em muares submetidos à prova de resistência de 100 km. *Ver Bras Med*  
355 *Vet* 2014;36:226-230.
- 356 [12] Gama JAN, Souza MS, Pereira Neto E, Souza VRC, Coelho CS. Concentrações  
357 séricas de aspartato aminotransferase e creatinoquinase e concentrações plasmáticas de

358 lactato em equinos da raça Mangalarga Marchador após exercício físico. *Braz J Vet Res*  
359 *Anim Sci* 2012;49:480-486.

360 [13] Manso Filho HC, Cothran EG, Juras R, Gomes Filho MA, Silva NMV, Silva GB,  
361 et al. Alelo DMRT3 mutante em equinos de marcha batida e picada das raças  
362 Campolina e Mangalarga Marchador. *Cienc Vet Trop* 2015;18:6-11.

363 [14] Coelho CS, Silva GAO, Oliveira Jr. LAT, Moraes VS, Conti, LMC, Champion T.  
364 Electrocardiographic patterns of Mangalarga Marchador horses before and after  
365 implementation of the marcha gait. *Cienc Rural* 2016;46:915-920.

366 [15] Manso Filho HC, Manso, HECCC, Cardoso EA, Melo RE, Silva FS, Abreu JMG.  
367 Avaliação da frequência cardíaca e do esforço físico em cavalos atletas pelo uso do  
368 frequencímetro. *Cienc Vet Trop* 2012;15:41-48.

369 [16] Linhares JM, Di Filippo PA, Bogossian PM, Guerra RVB, Bustamante SRB,  
370 Carvalho CB, et al. Physical exercise on sérum electrolytes and acid base balance in  
371 Managalarga Marchador horses submitted to cavalcade of 4, 8 and 20 km. *Cienc Rural*  
372 2017;47:e20160277.

373 [17] Di Filippo PA, Martins, LP, Meireles MAD, Quirino CR, Nogueira AFS,  
374 Bogossian PM. Influence of marcha exercise on the sérum concentrations of acute-  
375 phase proteins in Mangalarga Marchador horses. *J Equine Vet Sci* 2018;63:65-68.

376 [18] Munsters CCBM, van Iwaarden A, van Weeren R, Sloet van Oldruitenborgh-  
377 Oosterbaan MM. Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions.  
378 *Vet J* 2014;202:11-19.

379 [19] Falaschini A, Trombetta MF. Modifications induced by training and diet in some  
380 exercise-related blood parameters in young trotters. *J equine Vet Sci* 2001;21:601-604.

381 [20] Ferraz GC, Teixeira Neto AR, D'Angelis FHF, Lacerda Neto JC, Queiroz Neto A.  
382 Alterações hematológicas e cardíacas em cavalos árabes submetidos ao teste de esforço  
383 crescente em esteira rolante. *Braz J Vet Res An Sci* 2009;46:431-437.

384 [21] Binda MB, Teixeira FA, Carvalho RS, Macedo LP, Conti LMC, Manso Filho HC,  
385 Coelho CS. Effects of 3-barrel racing exercise on electrocardiographic and on blood  
386 parameters of Quarter Horses. *J Eq Vet Sci* 2016;47:71-76.

387 [22] Munoz A, Riber C, Trigo P, Castejon F. Erythrocyte indices in relation to  
388 hydration and electrolytes in horses performing exercises of different intensity. *Comp*  
389 *Clin Pathol* 2008;17:213-220.



- 390 [23] Bello CAO, Dumont CBS, Souza TC, Palma JM, Lima EMM, Godoy RF, et al.  
391 Avaliação eletrocardiográfica de equinos após exercício de polo (baixo *handicap*). Pesq  
392 Vet Bras 2012;32:47-52.
- 393 [24] Macedo LP, Binda MB, Teixeira FA, Carvalho RS, Conti LMC, Manso Filho HC,  
394 et al. Electrocardiographic and blood parameters in show jumping horses submitted to a  
395 field test under tropical conditions. J Equine Vet Sci 2017;58:1-6.
- 396 [25] Corrales-Hernandéz A, Mota-Rojas D, Gerrero-Legarreta I, Roldan-Santiago P,  
397 Rodríguez-Salinas S, Yáñez-Pizaña A, et al. Physiological responses in horses, donkeys  
398 and mules sold at livestock markets. Int J Vet Sci Med 2018 (in press).  
399 <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.03.002>
- 400 [26] Assenza A, Congiu F, Giannetto C, Fazio F, Piccione G. Haematological response  
401 associated with repeated show jumping competition in horse. Acta Scient Vet  
402 2015;43:1305-1310.
- 403 [27] Kowal RJ, Almosny NRP, Summa R, Cury LJ. Avaliação dos valores  
404 hematólogicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês (PSI)  
405 submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. Ver Bras Ciênc Vet 2006;13:25-  
406 31.
- 407 [28] Coelho CS, Fardin VV, Silva GAO, Carvalho RS, Pereira neto E. Influência da  
408 marcha sobre o eritrograma em equinos da raça Mangalarga Marchador. Vet Zootec  
409 2017;24:563-570.
- 410 [29] Carvalho RS, Macedo LP, Teixeira FA, Binda MB, Coelho CS. Volume  
411 corpuscular médio (VCM) e amplitude da distribuição do tamanho dos eritrócitos  
412 (RDW) em equinos da raça Quarto de Milha usados em provas de três tambores. Cien  
413 Anim Bras 2016;17:411-417.
- 414 [30] Islas A, Merino V, Mora G, Quezada M, Kraushaar R, Alvarez J, et al. Evaluacion  
415 de estres em equinos em entrenamiento para participar em prueba de resistencia. Agro  
416 Cien 2007;23:73-78.
- 417 [31] Satué K, Hernández A, Muñoz A. Physiological factors in the interpretation of  
418 equine hematological profile. Hematology Science and Practice: Open Acces Publisher  
419 2012;573-596.

420 [32] Gomide LMW, Martins CB, Orozco CAG, Sampaio RCL, Belli T, Baldissera V,  
421 Lacerda Neto JC. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de  
422 fundo do concurso completo de equitação. *Cien Rural* 2006;36:509-513.

423 [33] Orozco CAG, Martins CB, Gomide LMW, Queiroz Neto A, Lacerda Neto JC.  
424 Alteraciones metabólicas durante entrenamiento en equinos de la raza Pura Sangre  
425 Árabe. *Ver Med Vet* 2007;13:77-82.

426 [34] Padalino B, Rubino G, Centoducati P, Petazzi F. Training versus overtraining:  
427 evaluation of two protocols. *J Equine Vet Sci* 2007;27:28-31.

428 [35] Caiado JCC, Pissinate GL, Souza VRC, Fonseca LA, Coelho CS. Lactacidemia e  
429 concentrações séricas de aspartato aminotransferase e creatinoquinase em equinos da  
430 raça Quarto de Milha usados em provas de laço em dupla. *Pesq Vet Bras* 2011;31:452-  
431 458.

432 [36] Fazio F, Casella S, Assenza A, Arfuso F, Tosto F, Piccione G. Blood biochemical  
433 changes in show jumpers during a simulated show jumping test. *Veter Arhiv*  
434 2014;84:143-152.

435 [37] Escudero A, González JR, Benedito JL, Prieto FR, Ayala I. Electrocardiographic  
436 parameters in the clinically healthy Zamorano-leones donkey. *Res Vet Sci* 2009;87:458-  
437 461.

438  
439  
440  
441  
442  
443  
444  
445  
446  
447  
448  
449  
450  
451

452

453

454

455

456

457 Table 1. Mean values ( $\pm$ standard deviation) of physiological and biochemical

458 parameters measured in mules after a field marcha exercise.

Parameter	Experimental period				
	T0	T1	T2	T3	p
<b>Heart rate, beats/min</b>	48.8 $\pm$ 16.7 <sup>a</sup>	72.6 $\pm$ 22.7 <sup>b</sup>	48.6 $\pm$ 18.8 <sup>a</sup>	42.8 $\pm$ 7.6 <sup>a</sup>	0.0010
<b>Respiratory rate, breaths/min</b>	35.6 $\pm$ 12.9 <sup>ab</sup>	65.2 $\pm$ 29.0 <sup>c</sup>	47.2 $\pm$ 15.5 <sup>bc</sup>	27.2 $\pm$ 7.7 <sup>a</sup>	<0.0001
<b>Body temperature, °C</b>	37.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	39.5 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	38.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	37.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	<0.0001
<b>AST, U/L</b>	330.7 $\pm$ 47.6 <sup>a</sup>	358.8 $\pm$ 42.1 <sup>b</sup>	354.1 $\pm$ 47.1 <sup>ab</sup>	351.0 $\pm$ 48.6 <sup>a</sup>	0.0404
<b>CK, U/L</b>	337.7 $\pm$ 329.1	281.9 $\pm$ 124.8	295.0 $\pm$ 176.7	407.2 $\pm$ 251.5	0.7318
<b>Lactate, mmol/L</b>	0.83 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	1.51 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>	1.30 $\pm$ 0.37 <sup>ab</sup>	0.89 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	0.0023
<b>Glucose, mg/Dl</b>	78.3 $\pm$ 11.1 <sup>ab</sup>	108.1 $\pm$ 15.9 <sup>c</sup>	82.8 $\pm$ 15.2 <sup>b</sup>	67.3 $\pm$ 10.0 <sup>a</sup>	<0.0001
<b>Triglycerides, mg/Dl</b>	25.2 $\pm$ 13.9 <sup>b</sup>	35.5 $\pm$ 10.2 <sup>c</sup>	21.7 $\pm$ 10.4 <sup>ab</sup>	18.0 $\pm$ 7.6 <sup>a</sup>	<0.0001

<b>Proteína Total, mg/Dl</b>	7.5 ± 0.6	7.8 ± 0.6	7.5 ± 0.5	7.8 ± 0.5	0.4628
------------------------------	-----------	-----------	-----------	-----------	--------

459 **Note:** Different letters in the same line denote significant differences by Tukey test  
460 ( $p \leq 0.05$ ); T0: at rest; T1: immediately after the exercise; T2: at 30 minutes of recovery  
461 and T3: at 2 hours of recovery. AST, aspartate aminotransferase; CK, creatine kinase.

462 Table 2. Mean values ( $\pm$ standard deviation) of erythrogram and leukogram measured in  
463 mules after a field marcha exercise.

Parameter	Experimental period				
	T0	T1	T2	T3	p
<b>RBC, <math>\times 10^6/\mu\text{L}</math></b>	8.4 ± 0.8 <sup>b</sup>	8.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	8.5 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.0017
<b>Hemoglobin, g/dL</b>	14.2 ± 1.4 <sup>abc</sup>	14.6 ± 1.2 <sup>bc</sup>	13.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	14.5 ± 1.2 <sup>b</sup>	0.0131
<b>PCV, %</b>	41.0 ± 4.2 <sup>abc</sup>	41.9 ± 3.2 <sup>bc</sup>	37.5 ± 2.9 <sup>a</sup>	41.5 ± 3.6 <sup>b</sup>	0.0167
<b>MCV, fL</b>	49.0 ± 2.4	48.8 ± 2.2	48.5 ± 1.9	48.7 ± 2.5	0.8113
<b>MCHC, g/dL</b>	34.6 ± 0.7	34.8 ± 0.7	34.8 ± 0.8	34.9 ± 0.6	0.5172
<b>WBC, <math>\times 10^3/\mu\text{L}</math></b>	10.5 ± 3.3	10.4 ± 3.4	9.3 ± 3.4	11.1 ± 3.2	0.0626
<b>Neutrophils, <math>\times 10^3/\mu\text{L}</math></b>	4.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	5.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	4.3 ± 1.7 <sup>a</sup>	7.1 ± 2.5 <sup>b</sup>	0.0005
<b>Lymphocytes, <math>\times 10^3/\mu\text{L}</math></b>	4.2 ± 2.8 <sup>b</sup>	4.0 ± 2.9 <sup>b</sup>	3.6 ± 2.5 <sup>ab</sup>	2.6 ± 1.2 <sup>a</sup>	0.0059
<b>Monocytes, <math>\times 10^3/\mu\text{L}</math></b>	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.4	0.0928
<b>Eosinophils, <math>\times 10^3/\mu\text{L}</math></b>	1.1 ± 0.7	0.7 ± 0.4	1.0 ± 0.6	0.7 ± 0.3	0.4314

464 **Note:** Different letters in the same line denote significant differences by Tukey test  
 465 ( $p \leq 0.05$ ); T0: at rest; T1: immediately after the exercise; T2: at 30 minutes of recovery  
 466 and T3: at 2 hours of recovery. RBC, red blood cell count; PCV, packed cell volume;  
 467 MCV, mean corpuscular volume; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration;  
 468 WBC, white blood cell count.

469 Table 3. Mean values ( $\pm$ standard deviation) of the electrocardiogram measured in mules  
 470 after a field marcha exercise.

Parameter	Experimental period			
	T0	T1**	T2	p
<b>P amplitude (mV)</b>	0.16 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.0042
<b>R amplitude (mV)</b>	0.40 $\pm$ 0.36	0.37 $\pm$ 0.37	0.37 $\pm$ 0.37	0.2590
<b>HR (beats/ min)</b>	40.8 $\pm$ 16.8 <sup>a</sup>	65.4 $\pm$ 10.6 <sup>b</sup>	45.2 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>	<0.0001
<b>P duration (ms)</b>	98.0 $\pm$ 18.8	90.6 $\pm$ 12.6	96.9 $\pm$ 15.0	0.5199
<b>PR duration (ms)</b>	272.6 $\pm$ 37.4 <sup>b</sup>	231.8 $\pm$ 22.7 <sup>a</sup>	247.4 $\pm$ 30.8 <sup>ab</sup>	0.0054
<b>QRS duration (ms)</b>	123.2 $\pm$ 20.9 <sup>ab</sup>	114.2 $\pm$ 23.1 <sup>a</sup>	133.2 $\pm$ 24.4 <sup>b</sup>	0.0060
<b>QT duration (ms)</b>	508.7 $\pm$ 43.3 <sup>b</sup>	433.2 $\pm$ 31.7 <sup>a</sup>	484.0 $\pm$ 21.2 <sup>b</sup>	<0.0001
<b>QTc (ms)</b>	411.2 $\pm$ 70.3	449.8 $\pm$ 34.2	419.9 $\pm$ 38.6	0.0852

471 **Note:** Different letters in the same line denote significant differences by Tukey test  
472 ( $p \leq 0.05$ ); T0: at rest; T1: immediately after the exercise; T2: at 30 minutes of recovery.  
473 \*\* Mules saddled, without the rider, nearby the track

## 5. REFERÊNCIAS

AINSWORTH, D. M. Lower airway function: responses to exercise and training. In: Equine Exercise Physiology – **The Science of Exercise in the Athletic Horse**. Philadelphia: Elsevier, 2008. p. 193-209.

De Aluja AS. The welfare of working equids in México. Appl Anim Behav Sci 1998;59:19–29

ALBERNAZ, R.M. et al. Respostas eletrocardiográficas de equinos ao treinamento com base na curva velocidade-lactato determinada em esteira rolante. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, p.163-171, 2011.

ALC Ribeiro, RS Severino, RR Guerra, PO Favaron, HLPT Junior, REG Ricci, ALR Francioli, PR Facciotti, PP Bombonato. Biometria de pontes de miocárdio em muare (Equus caballus x Equus asinus – Linnaeus 1758). **Bioemas**, v. 22, n. 3 (2009).

ARAÚJO, A.L.; SOUZA, G.A.F.; NÓBREGA NETO, P.I.; SOUZA A.P. Tranquilização de asininos com acepromazina associada ou não ao diazepam. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.1, p.109-115, 2014.

BABUSCI, M.; LOPEZ, E.; Sistema cardiovascular. In: BOFFI, F. M. Fisiologia

del Ejercicio. **Buenos Aires: Inter-Médica**, 2007. p. 123-132.

De Oliveira J. 2004. Adequação da hemodiálise em equinos hípidos: Avaliação clínica e laboratorial. Tese de Doutorado

DINIZ, M.P. et al. Estudo eletrocardiográfico de equinos da raça Mangalarga Marchador.

FERNANDES, W.R.; JÚNIOR, M.D.; TOLEDO, P.S. et al. Avaliação dos níveis séricos de ureia, creatinina, sódio e potássio em cavalos da raça P.S.I submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, n.3, p.359-366, 2010

Franciscato C., Lopes S.T.A., Veiga A.P.M., Martins D.B., Emanuelli M.P. & Oliveira L.S.S. 2006. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesq. Agropec. Bras.** 41:1561-1565

Gomide L.M.W., Martins C.B., Orozco C.A.G., Sampaio R.C.L., Belli T., Baldissera V. & Lacerda Neto J.C. 2006. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante a prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural** 36:509-513.

GONÇALVES, R.W.; COSTA, M.D.; REZENDE, A.S.; ROCHA JÚNIOR; V.R., LEITE J.R.A. Efeito da endogamia sobre características morfométricas em cavalos da raça Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p. 419-426, 2012.

HARRIS, P. A.; MARLIN, D. J.; GRAY, J. Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex,

exercise and training. **The Veterinary Journal**, v. 155, n. 3, p. 295-304, 1998..

HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. Equine Sports Medicine and Surgery - Basic and Clinical Sciences of the Equine Athlete. 1ª ed., **Elsevier Limited**, 2004.

KIENZLE. E.; FREISMUTH A.; REUSCH, A. Double blind placebo controlled vitamin E and selenium supplementation of Sport horses with unspecified muscle problems. **Journal of Nutrition**, v.136, n.7, p.2045-2047, 2006

Kowal R.J., Almosny N.R.P., Cascardo B., Summa R.P. & Cury L.J. 2006. Avaliação dos valores de lactato e da atividade sérica da enzima creatina quinase (2.7.3.2) em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro-Sangue-Inglês (PSI) submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. **Revta Bras. Ciênc. Vet.** 13:13-19.

LUCENA, J.E.C.; VIANNA, S.A.B.; BERBARI NETO, F.; SALES FILHO, R.L.M.; DINIZ W.,J.S. Caracterização morfométrica de fêmeas, garanhões e castrados da raça Campolina baseada em índices. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.2, p. 431- 438, 2016.

Martins C.B., Orozco C.A.G., D`Angelis F.H.F., Freitas E.V.V., Christovão F.G., Queiroz Neto A. & Lacerda Neto J.C. 2005. Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em provas de enduro. **Revista Bras. Ciênc. Vet.** 12:62-65.

MARR, C.M.; BOWEN, I.M. Cardiology of the horse. Philadelphia: **Saunders**, 2010.

McCONAGHY, F. Thermoregulation. In:\_\_\_\_\_ The Athletic Horse. 9.ed. Philadelphia: **Saunders**, 1994. p. 181-202.



MCCUTCHEON, L. J; GEOR, R. J. Thermoregulation and exercise-associated heat stress. In: HINCHCLIFF, K. W.; GEOR R. J.; KANEPS A. J. Equine Exercise Physiology – The Science of Exercise in the Athletic Horse. Philadelphia: **Elsevier**, 2008. p.382-394.

McMANUS, C.; PAIVA, S.; LOUVANDINI, H.; MELO, C.; SEIXAS, L. Jumentos no Brasil. INCT: Informação genético-sanitária da pecuária brasileira. 2010. Disponível em: [http://inctpecuaria.com.br/images/informacoes-tecnicas/serie\\_jumentos.pdf](http://inctpecuaria.com.br/images/informacoes-tecnicas/serie_jumentos.pdf). Acesso em: 2 de janeiro de 2018.

OROZCO, C. A. G.; MARTINS, C. B.; COMIDE, L. M. W.; QUEIROZ NETO, A.; LACERDA NETO, J. C. Alteraciones metabólicas durante entrenamiento em eqüinos de La raza Pura Sangue Arabe. **Revista de Medicina Veterinária**, n.13, p.77-82, 2007

PALUDO, G. R., MCMANUS, C.; MELO, R. Q.; CARDOSO, A. D.; MELO, F. P. S.; MOREIRA, M.; FUCK, B. H.; Efeitos do estresse térmico e do exercício sobre parâmetros fisiológicos dos cavalos do exército brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p. 1130-1142, 2002.

PEREIRA NETO, E.et al.. Atividade sérica das enzimas musculares em muas submetidos à prova de resistência de 100 km. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. URL: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v33n11/v33n11a16.pdf>.

Pritchard J.C., Burn C.C., Barr A.R.S. & Whay H.R. 2009. Haematological and serum biochemical reference values for apparently healthy working horses in Pakistan. **Res. Vet. Sci.** 87:389-395

RIBEIRO C.R.et al. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muas submetidos à prova de resistência de 76km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, v 34, p. 1081-1086, 2004. URL:

<http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n4/a18v34n4.pdf>.

Ribeiro C.R., Martins E.A.N., Ribas J.A.S. & Germinaro A. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muares submetidos à prova de resistência de 76km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, 34:1081-1086, 2004.

SANTIAGO, J.M.; REZENDE, A.S.C.; LANA, Â.M.Q.; FONSECA, M.G.; ABRANTES R.G.P.; LAGE, J.; ANDRADE, J.M., RESENDE, T.M. Comparação entre as medidas morfométricas de equinos Mangalarga Marchador de marcha batida e marcha picada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p. 635- 639, 2014..

SUPRINYAK, C. E. O mercado de animais de carga no centro-sul do Brasil imperial: novas evidências. *Estudos Econômicos*. [Online] vol.38, n.2, p.319-347. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-41612008000200005>.

Thomassian A., Carvalho F., Watanabe M.J., Silveira V.F., Alves A.L., Hussni C.A. & Nicoletti J.L.M. 2007. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** **44:183-190**