

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia

Alice Timponi França Magalhães

**CARACTERIZAÇÃO COMPORTAMENTAL DA CORUJA-BURAQUEIRA COMO  
MODELO AVIÁRIO PARA INVESTIGAÇÃO DAS BASES NEURAIS E FARMACO-  
LÓGICAS DO PISCAR ESPONTÂNEO**

Belo Horizonte  
2023

Alice Timponi França Magalhães

**CARACTERIZAÇÃO COMPORTAMENTAL DA CORUJA-BURAQUEIRA COMO  
MODELO AVIÁRIO PARA INVESTIGAÇÃO DAS BASES NEURAIS E FARMACO-  
LÓGICAS DO PISCAR ESPONTÂNEO**

**VERSÃO FINAL**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Fabrício de Araújo Moreira

Co-orientador: Jérôme Baron

Belo Horizonte  
2023

043

Magalhães, Alice Timponi França.

Caracterização comportamental da coruja-buraqueira como modelo aviário para investigação das bases neurais e farmacológicas do piscar espontâneo [manuscrito] / Alice Timponi França Magalhães. – 2023.

74 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Fabrício de Araújo Moreira. Co-orientador: Jérôme Baron.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Aves. 3. Estrigiformes. 4. Piscadela. 5. Dopamina. I. Moreira, Fabrício de Araújo. II. Baron, Jérôme Paul Armand Laurent. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612:615



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 571 ALICE TIMPONI FRANÇA MAGALHÃES**

Às 14:00 horas do dia 12 do mês de junho de 2023, na Sala Wilson Berlado, Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB-UFMG, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de **Alice Timponi França Magalhães**. A presidência da sessão coube ao **Prof. Dr. Fabrício de Araujo Moreira**, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **Prof. Dr. Fabrício de Araujo Moreira**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Prof. Dr. Cleiton Lopes Aguiar**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Profa. Dra. Maristela de Oliveira Poletini**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais e **Prof. Dr. Jerome Paul Armand Laurent Baron**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, coorientador. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua **Dissertação de Mestrado**, intitulada: "**Caracterização Comportamental da coruja buraqueira como modelo aviário para investigação das bases neurais e farmacológicas do piscar espontâneo**". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **APROVADA** a Dissertação de Mestrado. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, será assinada pela Comissão Examinadora.

**Belo Horizonte, 12 de junho de 2023.**

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Fabrício de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 14/06/2023, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Cleiton Lopes Aguiar, Professor do Magistério Superior**, em 22/06/2023, às 08:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maristela de Oliveira Poletini, Professora do Magistério Superior**, em 11/07/2023, às 13:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Jerome Paul Armand Laurent Baron, Professor do Magistério Superior**, em 17/07/2023, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

### FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO Nº 571

" **Caracterização Comportamental da coruja buraqueira como modelo aviário para investigação das bases neurais e farmacológicas do piscar espontâneo**"

**ALICE TIMPONI FRANÇA MAGALHÃES**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **12 de junho de 2023**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

**Prof. Dr. Cleiton Lopes Aguiar**, ICB/UFMG

**Profa. Dra. Maristela de Oliveira Poletini**, ICB/UFMG

**Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira**, ICB/UFMG - Orientador

**Prof. Dr. Jerome Paul Armand Laurent Baron**, ICB/UFMG - Co-orientador

Belo Horizonte, 12 de junho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Fabrício de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 14/06/2023, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Cleiton Lopes Aguiar, Professor do Magistério Superior**, em 22/06/2023, às 08:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maristela de Oliveira Poletini, Professora do Magistério Superior**, em 11/07/2023, às 13:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Jerome Paul Armand Laurent Baron, Professor do Magistério Superior**, em 17/07/2023, às 17:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

# AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus orientadores, Fabrício e Jérôme, por todo o apoio desde o início deste trabalho e a seriedade com que foi conduzido. A minha família, em especial, minha mãe e meu pai, por todo carinho e suporte ao longo de todos esses anos. Aos meus colegas de laboratório, Héctor, Clara, Otávio e a Cíntia, em especial - muito obrigada por todos os ensinamentos. À Gabriela e à Mônica, que ajudaram na anotação dos comportamentos. Às sete corujas utilizadas para a realização deste trabalho, meu muito obrigada.

# RESUMO

O piscar dos olhos se caracteriza pelo rápido fechamento e reabertura das pálpebras causando um breve momento de perda da informação visual. Este movimento ocorre enquanto um reflexo, para manter a homeostase corneal, bem como espontaneamente. Pesquisas em mamíferos, principalmente primatas, têm mostrado que a taxa do piscar espontâneo está relacionado com o controle dopaminérgico de processos cognitivos e atencionais. Apesar de não sabermos o mecanismo neural por trás dessa associação, sabe-se que o sistema dopaminérgico é bastante conservado ao longo da evolução de vertebrados. Partindo desse argumento, nosso trabalho propõe a coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*) como um novo animal modelo para estudar este comportamento. O comportamento de piscar foi registrado para seis animais durante um período de 24 horas e nós realizamos a análise temporal do padrão de piscar dessas corujas. Por se tratar de uma espécie catemeral, este animal alterna entre os períodos de vigília e sono ao longo do dia e da noite, possibilitando que pudéssemos examinar como o estado central e os fatores exógenos contribuem para a dinâmica deste comportamento. Os piscares foram amostrados enquanto eventos discretos (resolução temporal: 1Hz). As séries temporais foram compiladas para piscares acompanhados de sacadas e piscares ocorrendo isoladamente (piscares isolados). Ao longo das 24 horas, a taxa mediana (IQR - variação inter-quartil) foi de 1,77 (IQR, 0,55) para piscar com sacada e 0,21 (IQR, 0,28) eventos/min para piscar isolado. Utilizando uma abordagem de seleção de modelos circular, descobrimos que a distribuição do piscar ao longo do dia não era uniforme e era melhor ajustada por modelos baseados em von Mises que incorporam pelo menos um pico no período da tarde. Não houve diferença significativa na média do horário de pico da tarde entre o piscar com sacada e o piscar isolado (teste de Watson-Williams,  $F = 0,0787$ ,  $p = 0,7847$ ). Para caracterizar a estrutura temporal de cada série temporal, calculamos o parâmetro de intermitência  $B$ , com base na distribuição de tempo entre piscares, e o parâmetro de memória  $M$ , baseado em métricas que correlacionam o tempo entre um piscares. A partir dessa análise, descobrimos que a ocorrência de eventos de piscar não é periódica e nem aleatória, mas segue uma dinâmica intermitente que é impulsionada por um forte efeito de curto-prazo. Além disso, nossos achados demonstraram que a privação de sono tem um impacto mais significativo sobre o piscar isolado do que nos piscares que ocorrem em conjunto com sacadas. De toda forma, a comparação entre os períodos pré- e pós-privação mostrou que a dinâmica temporal do piscar é preservada mesmo após a privação de sono.

**Palavras-chave:** aves, coruja-buraqueira, piscar com sacada, piscar isolado, dopamina, dinâmica temporal

# ABSTRACT

Eye blinking is characterized by the rapid closing and reopening of the eyelids causing a brief moment of loss of visual information. This movement occurs as a reflex, to maintain corneal homeostasis, as well as spontaneously. Research in mammals, mainly primates, has shown that the rate of spontaneous blinking is related to dopaminergic control of cognitive and attentional processes. Although we do not know the neural mechanism behind this association, it is known that the dopaminergic system is highly conserved throughout vertebrate evolution. Based on this argument, our work proposes the burrowing owl (*Athene cunicularia*) as a new animal model to study this behavior. We recorded the blinking behavior of six animals over a 24-hour period and conducted a temporal analysis of their blinking patterns. Because it is a cathemeral species, this animal alternates between periods of wakefulness and sleep throughout the day and night, allowing us to examine how central states and exogenous factors contribute to the dynamics of this behavior. Eye blinks were sampled as discrete events (temporal resolution: 1Hz). Time series were compiled for blinks accompanied by head saccades and from blinks occurring alone (isolated blinks). Over the 24 hours, the median rate (IQR - inter-quartile range) was 1.77 (IQR, 0.55) for saccade-associated blinks and 0.21 (IQR, 0.28) events/min for isolated blinks. Using a circular model selection approach, we found that the distribution of daily blinks was not uniform and was better fitted by Von Mises-based models that incorporate at least one peak in the afternoon. There was no significant difference in mean afternoon peak hours between blink with saccade and isolated blinking (Watson-Williams test,  $F = 0.0787$ ,  $p = 0.7847$ ). To characterize the temporal structure of each time series, we computed the burstiness parameter  $B$  based on the inter-blink time distribution and the memory parameter  $M$  based on the inter-blink time correlations metrics. From this analysis, we found that the occurrence of blinking events is neither periodic nor random but follows an intermittent dynamics that is primarily driven by a strong short-term memory effect. Moreover, our findings demonstrated that sleep deprivation has a more significant impact on isolated blinks than those occurring in conjunction with saccades. In any case, the comparison between the pre- and post-deprivation periods showed that the temporal dynamics of blinking are preserved even after sleep deprivation.

**Keywords:** birds, burrowing owl, blink with saccade, isolated blink, dopamine, temporal dynamics

# LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1A: Resumo dos resultados da seleção de modelo para piscar com sacada .....	37
Tabela 3.1B: Resumo dos resultados da seleção de modelo para piscar isolado .....	38

# LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Exemplos ilustrativos de valores B e M para diferentes processos geradores .....	30
Figura 3.1: Distribuição circular do piscar ao longo de 24 horas .....	36
Figura 3.2: Taxa de piscar em diferentes períodos do dia.....	39
Figura 3.3: Resumo dos dados da temperatura ambiente e umidade relativa do ar ao longo das 24 horas de gravação de vídeo. ....	40
Figura 3.4: Efeito da privação de sono no piscar .....	42
Figura 3.5: Exemplo da distribuição dos intervalos entre eventos (IEEs) .....	43
Figura 3.6: Dinâmica de distribuição temporal do piscar .....	44
Figura 3.7: Caracterização do piscar nos diferentes períodos do dia .....	46
Figura 3.8: Impacto da privação de sono na dinâmica do piscar. ....	46

# LISTA DE ABREVIATURAS

AIC – critério de informação de Akaike

ANOVA - análise de variância

IEE - Intervalo entre eventos

IQR - Variação inter-quartil

LP - Músculo levantador da pálpebra

OO - Músculo *Orbicularis occuli*

PS - Privação de sono

REM - Movimento rápido dos olhos

T°C - Temperatura

UR - Umidade relativa

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
1.1 Justificativa .....	13
1.2 Revisão da literatura .....	16
1.3 Objetivos .....	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	23
2.1 Animais e local experimental .....	23
2.2 Sessões de gravação .....	23
2.2.1 Privação de sono .....	24
2.2.2 Gravação e captura dos vídeos .....	24
2.2.3 Coleta de dados ambientais .....	25
2.3 Anotação dos comportamentos .....	25
2.4 Análise temporal .....	25
2.4.1 Análise circular .....	26
2.4.2 Índices de Burstiness e Memória .....	29
2.4 Análise estatística .....	31
3. RESULTADOS .....	32
3.1 Resultados gerais .....	32
3.2 Análise das taxas .....	33
3.2.1 Distribuição circular dos eventos .....	33
3.2.2 Distribuição do piscar nos diferentes períodos do dia .....	39
3.2.4 Efeito da privação de sono .....	41
3.3 Análise dos intervalos entre eventos (IEEs) .....	43
3.3.1 Efeito da privação de sono .....	46
4. DISCUSSÃO .....	47
4.1 Relação entre o piscar com sacadas de cabeça e o piscar isolado .....	48

4.1.1 Mecanismos neurais que controlam o piscar e a motricidade ocular	50
4.1.3 Efeito da privação de sono sobre piscar com sacada e o piscar isolado .....	51
4.2 Relação entre o piscar e os fatores exógenos .....	52
4.2.1 Piscar e fotoperíodo de maior atividade, existe uma associação?..	54
4.3 Aumento da taxa de piscar está ligado à pressão de sono .....	55
4.3.1 Efeito homeostático da privação de sono.....	56
4.4 Organização temporal do piscar .....	57
4.5 Perspectivas futuras .....	60
5. BIBLIOGRAFIA .....	62

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Justificativa

Pouco se sabe sobre as bases neurais do piscar. Todavia, estudos em mamíferos, principalmente em humanos, apontam para uma associação entre processos mediados pela dopamina e variações da taxa de piscar espontâneo. Além disso, sabe-se que o sistema dopaminérgico é bastante conservado ao longo da evolução de vertebrados. Estudos recentes em lampreias têm mostrado que os neurônios dopaminérgicos - moduladores das respostas motoras -, bem como os núcleos da base e receptores dopaminérgicos, já estavam presentes no início da evolução dos vertebrados (Eugen et al., 2020; Grillner & Robertson, 2016; Pérez-Fernández et al., 2021; Suryanarayana et al., 2022). Ademais, estudos sobre o piscar em amniotas apontam para variações significativas nas taxas de piscar. Dessa forma, é razoável supor que a compreensão dos mecanismos neuronais por trás dessa associação possam ser obtidas a partir da proposta de novos animais-modelo. O objetivo inicial do nosso trabalho era de investigar o papel facilitatório da dopamina, via receptores D1 e D2, sobre o piscar espontâneo na coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*).

Os primeiros estudos a sugerirem a associação entre variações na taxa de piscar espontâneo e as funções dopaminérgicas, foram pesquisas relacionados a distúrbios neurocognitivos e neurodegenerativos (Kennedy, 1927; Ostow & Ostow, 1945). Segundo Ponder e Kennedy (1927), a redução da taxa de piscar em pacientes com doença de Parkinson pós-encefálico está associada a lesão nos núcleos da base decorrente da doença (Kennedy, 1927). Estudos posteriores, apontam para uma variação nessas taxas, concentrando-se principalmente em dois extremos: pacientes em estágios mais severos apresentam taxas mais baixas desse comportamento, enquanto taxas aumentadas são associadas à discinesia (KARSON, 1983; Karson, Lewitt, et al., 1982; Korošec et al., 2006).

Por outro lado, pacientes com esquizofrenia apresentam um aumento da taxa de piscar (Helms & Godwin, 1985; JR., 1978; Karson, 1979; Karson, 1983; Karson,

Bigelow, et al., 1982; Mackert et al., 1990, 1991). Todavia, sua causa é ainda incerta: enquanto alguns estudos apontam para um aumento decorrente da retirada da medicação, Craig e Karson (1979), mostraram que essa taxa é ainda maior nos pacientes em uso da medicação (Helms & Godwin, 1985; JR., 1978; Karson, 1979; KARSON, 1983). Em contrapartida, o estudo de Mackert e colaboradores (1991), constatou que a diferença entre as taxas do grupo em uso de medicamentos neurolépticos e o grupo que nunca usou nenhuma medicação não é significativa, apesar de ambos os grupos apresentarem uma taxa elevada quando comparados ao grupo controle (Mackert et al., 1991).

A associação entre o piscar e as variações nos níveis de dopamina encefálicos, a partir de estudos com agonistas e antagonistas dopaminérgicos, também tem sido demonstrada em algumas espécies de mamíferos não humanos (Desai et al., 2007; Elsworth et al., 1991; Kaminer et al., 2011; KARSON, 1983; Karson et al., 1981; Taylor et al., 1999). Todavia, a maioria desses estudos se concentra nas variações das taxas de piscar, antes e após a administração do fármaco estudado, e as bases neurais desse comportamento ainda são pouco conhecidas.

Em aves, a literatura sobre o piscar ainda é incipiente e, neste grupo, não há estudos farmacológicos sobre o papel da dopamina no controle do piscar espontâneo. A proposta de que aves e mamíferos compartilham estruturas homólogas, possibilitando maior avanço dos estudos e diversificação de animais-modelo, teve início nos anos 60 e 70. Até então, a teoria vigente era a proposta por Ludwig Edinger, fundador da neuro-anatomia, que tipificava que o telencéfalo evoluiu de forma progressiva, com a adição de novas estruturas e maior complexidade de maneira cronológica (Jarvis et al., 2005). Assim, o cérebro de aves era composto basicamente pelos núcleos da base, cuja função era puramente instintiva. Todavia, a partir de uma série de evidências coletadas entre os anos 1950 e 1970, foi possível realizar inferências comparativas entre o cérebro de mamíferos e aves, rejeitando o conceito de escala linear para filogenia, e que apontam para homologias entre as regiões dos núcleos da base (Karten, 1969; Reiner et al., 2005). A partir desses estudos, viu-se que projeções dopaminérgicas mesencefálicas terminavam no neo-estriado, nos mamíferos, e no *palaestriatum augmentatum* e *lobus paraolfatorium* em aves, (porções lateral e medial - respectivamente - do estriado dorsal de aves, de acordo com nova nomenclatura) (Jarvis et al., 2005; Reiner et al., 2005). Além de participarem do

comportamento instintivo e motor, essas regiões também participam de circuitos de aprendizado motor (Jarvis et al., 2005).

Assim como primatas, aves apresentam um sistema visual bastante desenvolvido (Shimizu & Bowers, 1999). Apesar das linhagens que deram origem a aves e mamíferos terem divergido a 300 milhões de anos, esses dois grupos exibem uma série de similaridades no processamento da informação visual (Knudsen, 2020; Shimizu & Bowers, 1999). Ambos os grupos apresentam duas vias visuais paralelas: retinotalamofugal e retino-tecto-fugal, sendo a primeira, a principal via de entrada do córtex visual primário (V1) de primatas e do wulst visual de corujas (Medina et al., 2000; Shimizu & Bowers, 1999). O wulst visual tem uma organização topográfica precisa e possui alto grau de integração binocular nessas aves. Ainda, os neurônios nessa região são seletivos para orientação e direção de movimento, e apresentam propriedades de filtragem espaço-temporais assim como encontradas em primatas (Karten et al., 1973; Pettigrew, 1979; Pettigrew & Konishi, 1976; Pinto & Baron, 2009).

A partir do expostos acima, podemos considerar que a coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*) é um bom modelo animal para se obter informações comparativas sobre as bases neurais e farmacológicas do piscar. Porém, devido as restrições impostas pela pandemia de COVID-19, não foi possível realizar os experimentos farmacológicos para averiguar o papel da dopamina no piscar. De qualquer forma, este estudo trás uma análise muito rica sobre a dinâmica temporal do piscar espontâneo nesta espécie. A coleta dos dados ocorreu pela abordagem de gravação de vídeo de 24 horas em ambiente semi-natural. A partir destas gravações, foi possível acessar o repertório de comportamentos dos animais e analisar seu padrão de distribuição, além do nível de atividade das corujas. Ademais, conforme as análises apresentadas na tese de doutorado de Garcia (2022), trata-se de uma espécie catemeral, uma vez que, ao longo de 24 horas, a distribuição dos comportamentos ativos e relacionados ao estado de vigília deste animal é não-uniforme. Assim, a coruja-buraqueira alterna constantemente entre os estados de sono e vigília ao longo do dia e da noite, apresentando picos de atividade nos períodos crepusculares. Esse traço comportamental oferece uma oportunidade inexplorada para examinar até que ponto o estado central e os sinais exógenos (nível de luz, por exemplo) afetam a dinâmica temporal do piscar de olhos.

## 1.2 Revisão da literatura

Durante a evolução dos vertebrados, pálpebras 'verdadeiras' apareceram pela primeira vez no grupo de peixes cartilagosos, Elasmobranchii (Walls, 1963). Este novo aparato possibilitou um rápido e involuntário fechamento e reabertura dos olhos, protegendo a córnea de danos (Bell & Satchell, 1996). Apesar de não estarem diretamente relacionados aos Tetrapoda, os peixes cartilagosos compartilham algumas adaptações de seu sistema visual àquelas encontradas nos olhos aéreos, incluindo o comportamento mencionado, conhecido como piscar.

A função fundamental do piscar é manter a córnea limpa e lubrificada, espalhando o filme lacrimal (Holly, 1973). Embora apenas três a quatro piscares por minuto sejam necessárias para atingir este objetivo, a taxa de piscar em um indivíduo normal é de cerca de 12 piscares/minuto (Al-Abdulmunem, 1999). Para cada piscar, há uma perda temporária do *input* visual, uma vez que as pálpebras cobrem a pupila por algumas dezenas a cerca de trezentos milissegundos (VanderWerf et al., 2003). Todavia, estas lacunas no processo visual passam despercebidas devido a uma redução na sensibilidade visual (Manning et al., 1983; Riggs et al., 1981; Volkmann et al., 1980, 1982). Para averiguar a hipótese de que o processo de supressão visual é produzido centralmente, Volkmann e colaboradores (1980) mediram a redução da sensibilidade visual durante o piscar. Para tanto, a retina foi mantida sob iluminação constante, a partir de um feixe de fibra óptica posicionado contra o palato e direcionado para o globo ocular, retirando o efeito das pálpebras e de fatores retiniais sobre o processo. A partir deste experimento, ficou demonstrado que há uma perda significativa da sensibilidade visual durante o piscar, apontando para uma origem neural dos mecanismos de supressão do piscar e não retinal. Ainda, para investigar sobre a percepção subjetiva do piscar, Riggs e colegas (1981) utilizaram um Ganzfeld para simular o decréscimo de iluminação apropriado que correspondesse ao piscar. O estudo mostrou que, para que o efeito do piscar fosse igualado pelo Ganzfeld, era necessário que a redução na iluminação fosse de duração e magnitude muito menores do que aquelas produzidas por um piscar verdadeiro (Riggs et al., 1981).

Os mecanismos subjacentes à supressão da atividade neural, bem como a continuidade perceptual, durante o piscar ainda não são totalmente compreendidos.

As diferenças encontradas nesses estudos podem ser influenciadas por diversos fatores, como: a técnica empregada, os estímulos utilizados ou mesmo o tipo de piscar que está sendo investigado. Em primatas, estudos eletrofisiológicos, sobre o piscar reflexo, apontam para uma supressão da atividade de neurônios no córtex visual primário (V1) e áreas visuais extra-estriadas (V2, V3, e V4) (Gawne & Martin, 2000, 2002). Dado que a redução na atividade neuronal é maior durante o piscar do que quando uma luz externa é apagada, sugeriu-se a o mecanismo de supressão do piscar é um processo ativo.

Em humanos, resultados diferentes foram observados ao se estudar o piscar voluntário ou espontâneo. Bristow e colegas (2005), por exemplo, utilizaram a neuroimagem funcional para estudar o mecanismo de supressão relacionado ao piscar voluntário. Para isso, os autores empregaram a técnica de iluminação transpalatina desenvolvida por Volkmann e colaboradores (1980) e mostraram que, quando o efeito do piscar é isolado, há uma redução significativa de atividade em V3 e dos córtices parietal e pré-frontal, sugerindo um possível mecanismo para a continuidade perceptual (Bristow et al., 2005). Ainda, segundo os resultados deste estudo o processo ativo responsável pela geração do piscar é um sinal de origem motora: campo ocular frontal (FEF) e campo ocular suplementar (SEF). Todavia, estudos sobre o piscar espontâneo apresentaram resultados controversos aos de Bristow e colaboradores (2005). Utilizando a ressonância magnética funcional (RMf), Hupé e colaboradores (2012) encontram um pico de ativação, durante o piscar, nos sulcos parieto-occipital e calcarino, com uma potência de ativação inversamente proporcional a taxa. Ademais, os autores não encontraram ativações nas áreas de controle óculo-motor (FEF e SEF) (Hupé et al., 2012; Tse et al., 2010). Os estudos acima refletem a complexidade por trás do fenômeno de supressão do piscar, sendo necessários mais estudos para que possa ser compreendido.

Mesmo que esta supressão da sensibilidade visual e da atividade neural possam proporcionar uma sensação de continuidade na percepção, tais piscares devem ser *programados* para que resultados adversos possam ser evitados. O entendimento atual da relação entre piscar os olhos e a percepção visual deriva em grande parte de estudos com humanos. De acordo com essas pesquisas, a taxa de piscar varia dependendo da atividade com a qual o sujeito está envolvido, apresentando uma taxa mais elevada durante o repouso e reduzida durante a realização de tarefas cuja

demanda cognitiva e atencional sejam maiores (Drew, 1951; Hall, 1945; Hoppe et al., 2018; Stern et al., 1984). Nesses estudos, foi observado, que há um aumento na frequência de piscar durante tarefas associadas à fala, e que ela diminui durante uma leitura silenciosa - ou escuta de um texto que deve ser memorizado (Ponder and Kennedy, 1927; Hall, 1945; Karson et al., 1981; Forgaty and Stern, 1989). O estudo de Bentivoglio e colaboradores (1997), por exemplo, utilizando o período de repouso como referência, mostrou que há um aumento da taxa de piscar durante a conversação e sua redução durante a leitura (Bentivoglio et al., 1997).

Além disso, considerando um indivíduo durante a leitura, ou assistindo a uma história em vídeo, viu-se que o piscar tende a ocorrer em pontos específicos, quando há menor demanda atencional (Hall, 1945; Nakano et al., 2009; Orchard & Stern, 1991). Hall (1945), mostrou que, quando o indivíduo lê em voz alta, a ocorrência do piscar está associada a pontuações, mudanças de páginas, ou ao final de uma sentença (Hall, 1945). Já no estudo de Orchard e Stern (1991), em que o piscar foi avaliado ao longo da leitura silenciosa de um texto, mostrou-se que este comportamento está frequentemente associado a sacadas oculares e a mudanças de linha, bem como a outros pontos de pausa no texto (Orchard & Stern, 1991). A partir disso, o piscar vem sendo associada a um tipo de *reset* mental (Ichikawa & Ohira, 2003; Siegle et al., 2008).

Segundo o estudo de Nakano e colaboradores (2013), o piscar também está envolvido com a ativação de áreas corticais que participam da Rede em Modo Padrão (RMP), que tem sua atividade elevada na ausência de tarefas que apresentam um objetivo e está envolvida no processamento atencional interno (Nakano et al., 2013). A pesquisa foi feita utilizando o método de ressonância magnética e mostrou que o piscar dos participantes, enquanto assistiam a um vídeo, foi concomitante a ativação transiente de áreas da RMP (incluindo: precuneus, córtex cingulado anterior e giro angular). Esses resultados indicam que o piscar está ativamente relacionado com a modulação das redes neurais de orientação da atenção (Nakano, 2015).

Da mesma forma, estudos anteriores constataram que há uma associação entre o piscar e a atividade oscilatória na faixa de frequência delta durante o período de repouso, que é fase e tempo coerente (Bonfiglio et al., 2009). A hipótese dos autores é de que esta atividade esteja relacionada a um mecanismo automático de orientação atencional do cérebro e manutenção da vigília, mesmo quando a atenção

do indivíduo está orientada para si (Bonfiglio et al., 2009, 2011). As oscilações relacionadas ao piscar (ORP) na frequência delta parecem ter origem nas regiões do córtex cingulado posterior e precuneus, sendo esta última envolvida no processamento de informação visuo-espacial e consciência (Bonfiglio et al., 2013; Liu et al., 2017). Corroborando com essa hipótese, estão os resultados de Hari (1994), em que foi mostrada a ativação do córtex parietal-posterior durante o piscar, região associada ao sistema de memória de trabalho espacial (Hari et al., 1994).

Variações na taxa de piscar ocular também são associadas tem ao tempo para realização e nível de dificuldade uma tarefa (Drew, 1951; Holland & Tarlow, 1972, 1975; Oh et al., 2012); e parecem ser relacionadas a fatores psicológicos e às condições fisiopatológicas de um indivíduo (Barbato et al., 2012; Giannakakis et al., 2017; Kennedy, 1927). A partir desses estudos, viu-se que o piscar é influenciado por funções dopaminérgicas, como variações de taxas associadas disponibilidade de dopamina estriatal. Por conseguinte, o piscar é frequentemente usado como um biomarcador comportamental para processos internos (Hoppe et al., 2018; Terhune et al., 2016).

Os estudos sobre espécies não-humanas têm se concentrado na frequência com que o piscar ocular ocorre (Carrington et al., 1987; Evinger et al., 1984; Kirsten & Kirsten, 1983; Merkies et al., 2019; Stevens & Livermore, 1978; Tada et al., 2013). De acordo com alguns destes estudos, a taxa deste comportamento está relacionada aos ritmos de atividade, com espécies diurnas tendo uma taxa mais alta que as espécies noturnas (Kirsten & Kirsten, 1983; Stevens & Livermore, 1978; Tada et al., 2013). Embora o número de investigações entre as espécies não-humanas seja limitado, estas análises também indicam a influência das atividades desses animais na regularidade do piscar dos olhos. Por exemplo, estudos com espécies diferentes descobriram que o intervalo de tempo entre dois piscares consecutivos aumenta durante a alimentação ou na presença de uma situação estressante, como o aparecimento de um predador (Blount, 1927; Cross et al., 2013; Yorzinski, 2016). Taxas de piscar reduzidas podem estar associadas à minimização das perdas visuais induzidas por piscares durante a detecção de ameaças (Beauchamp, 2017).

Da mesma forma, estudos com mamíferos e aves revelam uma correlação positiva entre o piscar dos olhos e o tamanho do grupo (Beauchamp, 2017; Matsumoto-Oda et al., 2018; Rowe et al., 2021). Devido ao risco adicional de predação, indi-

víduos em grupos menores apresentam um aumento da carga atencional e precisam estar em alerta (Beauchamp, 2017; Matsumoto-Oda et al., 2018; Yorzinski, 2020a). Alternâncias na carga atencional foram propostas como sendo um potencial condutor para as mudanças dinâmicas na taxa de piscar em cavalos e algumas espécies de aves (Mott et al., 2020; Yorzinski, 2020a; Yorzinski et al., 2021). Ainda, estudos investigando o telencéfalo de corvos, a partir de imagens *in vivo*, mostraram um aumento de atividade em áreas relacionadas ao processamento visual, vias associativas e de aprendizagem quando o animal é exposto à um rosto humano familiar (Cross et al., 2013; Marzluff et al., 2012). O padrão de ativação de circuitos neurais também foi associado a mudanças de atividade no piscar. Houve uma redução na taxa de piscar à medida em que os corvos eram re-apresentados a rostos humanos que representassem ameaça e um aumento, quando o rosto era associado ao cuidado desses animais.

Alterações das condições ambientais também podem modificar o comportamento do piscar. Dois trabalhos publicados por Yorzinski e colegas em 2019 sugerem que o vento e a chuva podem impactar o processamento visual dos grackles de cauda longa aumentando a taxa de piscar os olhos (Yorzinski, 2020b; Yorzinski & Argubright, 2019). Estudos em humanos também apontam para o impacto do vento no comportamento de piscar. Além de aumentar a taxa de piscar, o ressecamento da córnea provoca a redução dos intervalos entre eventos e aumento da regularidade do piscar (Nakamori et al., 1997; Wu et al., 2014).

Ademais, o piscar pode ocorrer associado a um comportamento oculomotor de redirecionamento do olhar (Evinger et al., 1984; Yorzinski, 2016). Em mamíferos, por exemplo, o piscar pode acontecer em conjunto com o movimento rápido dos olhos, ou cabeça, também conhecido como sacada. Já em aves, em que a busca visual é feita por movimentos rápidos da cabeça - uma vez que apresentam olhos praticamente imóveis -, o comportamento do piscar dos olhos pode ocorrer sozinho ou associado à sacada de cabeça (Beauchamp, 2017; Yorzinski, 2016, 2020a, 2020b; Yorzinski et al., 2021; Yorzinski & Argubright, 2019). Por conseguinte, pesquisas controlando o potencial fator de confusão, causado pelos movimentos de cabeça sobre o piscar, descobriram que este comportamento permanece similar quando o movimento de cabeça da ave é livre ou restringido (Yorzinski, 2020b; Yorzinski & Argu-

bright, 2019). Nos pavões, por outro lado, o piscar só ocorre em associação com as sacadas da cabeça (Yorzinski, 2016).

Tanto em aves como em mamíferos, a co-ocorrência desses comportamentos parece estar relacionada a amplitude de reorientação do olhar. Em humanos, por exemplo, 97% das sacadas com mais de 33° de amplitude foram acompanhadas por um piscar (Evinger et al., 1994). Na coruja-buraqueira e em pavões, uma associação parecida foi mostrada, com 85% dos piscares, na primeira espécie, ocorrendo de forma concomitante a sacada e, 76% na segunda espécie, associados a sacadas com amplitudes maiores que 15° (Dias, 2013; Yorzinski, 2016). A primeira hipótese para explicar a associação entre esses dois comportamentos seria a de que o piscar é gerado por um mecanismo reflexo, dado a estimulação da córnea pelo movimento rápido de reorientação do olhar. Contudo, essa explicação é insustentável, uma vez que o início da atividade do músculo responsável pelo fechamento das pálpebras, *orbicularis oculi* (OO), é anterior ao da sacada (Evinger et al., 1994). Além disso, estudos em pacientes com distúrbios neuro-degenerativos sugerem que o piscar modula a sacada. Hain e colegas (1986), reportaram em um estudo de caso a ocorrência sacadas anormais, quando associadas ao piscar, seguidas de uma sacada rápida no sentido contrário (Hain et al., 1986). Em alguns casos o paciente com a doença de Huntington só consegue fazer uma sacada se piscar (Lasker & Zee, 1997). Assim, o mais provável é de que exista uma associação entre os circuitos que geram o piscar e a sacada.

Durante uma sacada, assim como acontece no piscar, a informação visual é suprimida (Volkman, 1986; Volkman et al., 1980). Alguns estudos inclusive sugerem que ambos compartilhem um mesmo mecanismo de supressão neuronal, dado o efeito produzido por esses comportamentos (Ridder & Tomlinson, 1997; Volkman, 1986). Essa co-ocorrência positiva poderia ser explicada por uma redução na perda visual, dado que ambos comportamentos geram uma redução da sensibilidade visual (Beauchamp, 2017; Yorzinski, 2016; Evinger et al., 1984, 1994). Uma outra teoria é a de que essa associação ocorre para para proteger e lubrificar a superfície ocular durante o movimento sacádico (Gandhi, 2012; NAKAMORI et al., 1997). Ademais, sabendo-se que a ligação entre esses dois movimentos não é obrigatória (Evinger et al., 1994). Estudos em humanos, por exemplo, mostraram que o indivíduo não pisca ao direcionar o olhar para um alvo, mas durante uma sacada em que retornam com

os olhos para o ponto inicial (Evinger et al., 1994; Stern et al., 1984). Williamson e colegas (2005), conduziram um experimento para avaliar se a hipótese de que a informação visual não é a única responsável pela supressão da atividade do músculo OO durante uma sacada. Para isso, os autores compararam a atividade deste músculo durante (1) tarefas guiadas por estímulos visuais (estímulo permanecia iluminado) e (2) tarefas guiadas por memória (estímulo aparecia por poucos segundos). Em ambas as tarefas a atividade do músculo foi medida utilizando um exame de eletromiografia (OOemg). A partir deste estudo, viu-se um aumento da atividade OOemg associada às sacadas de retorno tanto na 1ª como na 2ª tarefa, apontando para uma modulação da atividade do músculo OO com origem extra-retinal, uma vez que não depende da informação visual.

Na coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*), tema de nosso estudo, o comportamento do piscar está associado principalmente a sacadas de cabeça. O primeiro estudo a documentar sobre a taxa de piscar na coruja-buraqueira foi realizado por Kirsten e Kirsten (1983), porém os autores não diferenciaram o piscar em dois tipos (Kirsten & Kirsten, 1983).

## 1.3 Objetivos

O objetivo do presente trabalho é caracterizar a dinâmica temporal do comportamento do piscar espontâneo exibido pela coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*).

### Objetivos Específicos

- Quantificar a variação do piscar associado às sacadas de cabeça e do piscar isolado ao longo de 24 horas de observação;
- Quantificar a taxa de incidência do piscar em função dos períodos do dia, da temperatura (°C), e da umidade (UR);
- Caracterizar a organização temporal piscar;
- Avaliar o impacto da privação de sono na taxa e na estrutura temporal do piscar.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Animais e local experimental

Um total de sete corujas-buraqueiras (*Athene cunicularia*) foram monitoradas durante a coleta dos dados (peso médio: 185g). Quatro delas nasceram em cativeiro, e as outras três foram obtidas do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), em Belo Horizonte. Os animais foram mantidos em um aviário ao ar livre, no qual são colocadas as outras corujas-buraqueiras. Cada coruja é identificada com anéis coloridos e codificados de acordo com sua espécie e ano de chegada.

O aviário encontra-se nas instalações externas do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) localizado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Possui uma área total de 78,03 m<sup>2</sup>, dividida em viveiros menores, que também abrigam outras espécies de corujas (por exemplo, *Tyto furcata*, *Asio clamator*, *Megascops choliba*). Cada viveiro é dividido por um quebra-vento metálico, armação espaçada por 2,5 cm, e tem um telhado semi-coberto. Esta estrutura permite que as corujas tenham contato visual e auditivo com o exterior. Uma área bastante arborizada, de frente para o prédio do instituto.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CEUA, licença nº 178/2017). E uma licença do IBAMA foi concedida para manter as corujas em cativeiro para fins científicos (licença nº 290344). O projeto também recebeu autorização do Sistema Nacional de Manejo de Recursos Genéticos e Conhecimentos Tradicionais Associados (SisGen, nº de registro: A0792B6).

### 2.2 Sessões de gravação

Um histórico de exposição anterior ao pesquisador e das condições experimentais foi conduzido com as corujas experimentais, a fim de minimizar o estresse associado ao procedimento. Nesta fase, os animais foram transferidos para um viveiro isolado e cada um deles foi amarrado em um poleiro de arco curvo de 50 cm de altura. Aproximadamente um metro de corda foi usado para garantir que o animal pudesse expressar seu comportamento enquanto ainda permanecesse dentro do campo de visão de uma ou de ambas as câmeras de vídeo.

As experiências foram realizadas no inverno, de meados de julho a agosto de 2016 e dentro do mesmo período em 2018; e, no verão, do final de fevereiro a março de 2019. Cada sessão experimental começou por volta das 16:00 e 18:00 horas.

### 2.2.1 Privação de sono

Durante as sessões de gravação de verão, também realizamos o protocolo de privação do sono (PS). Este protocolo consistia de três partes: 1) Antes da privação do sono; 2) Protocolo de privação do sono (PS); 3) Após a privação do sono. Cada uma destas partes teve uma duração total de 24 horas, sendo a primeira e a terceira gravadas. Durante a PS, estimulamos manualmente a coruja dentro do aviário ao ar livre usando uma corda presa a sua perna. Monitoramos a coruja PS usando duas câmeras de vídeo infravermelho de dentro do laboratório. Portanto, cada vez que os animais apresentavam-se sonolentos, sem se movimentar, puxávamos a corda para acordá-los. Seis pessoas do laboratório participaram deste protocolo, fazendo turnos em pares.

### 2.2.2 Gravação e captura dos vídeos

O comportamento de piscar das corujas-buraqueiras foi gravado por duas câmeras de vídeo infravermelho (COLOR 700 SONY - CCD) a uma frequência de amostragem de 25 Hz. Cada coruja foi filmada por 24 horas e 5 minutos e o vídeo capturado (através do Ezcape © 1168 USB 2.0 - Video Capture) foi armazenado para análise posterior. Antes do início de cada sessão, foram fornecidos alimento e água *ad-libitum*, e as aves selecionadas também eram pesadas para garantir sua

saúde. Não analisamos os primeiros 5 minutos do vídeo para permitir que os animais se acomodassem com a situação experimental.

### 2.2.3 Coleta de dados ambientais

O monitoramento da temperatura e umidade foi realizado a partir de um data logger (Trotec BL30 - GmbH & Co. KG) instalado dentro do aviário, com uma precisão de  $\pm 1^\circ\text{C}$  para a temperatura e  $\pm 3,5\%$ ; Faixa 0 - 100 % UR para a umidade relativa. O intervalo de armazenamento dos dados foi de 3 minutos. Os dados foram reamostrados a 1 Hz usando interpolação linear. Apenas duas corujas não tiveram esses dados amostrados.

## 2.3 Anotação dos comportamentos

A anotação dos comportamentos de piscar associado à sacada e piscar isolado foi realizada manualmente pelos pesquisadores usando o Software Interativo de Pesquisa de Observação Comportamental (BORIS, versão 2.95, <http://www.boris.unito.it>), um programa de registro de eventos de código aberto (Friard.2016yd). Os dados coletados foram analisados com um segundo de resolução (1 Hz), portanto, se dois comportamentos ocorreram no mesmo segundo, estabelecemos o critério de que apenas o primeiro seria computado.

## 2.4 Análise temporal

Para a análise temporal tanto do piscar com a sacada quanto do piscar isolado, cada um destes comportamentos foi computado como um evento discreto, em duas séries temporais distintas. Essas séries temporais representaram o tempo de ocorrência de piscar com sacada ou piscar isolado durante a sessão experimental. A taxa e o intervalo entre eventos (IEE) de cada uma destas séries temporais foram extraídas. Medidas matemáticas adicionais foram conduzidas para acessar o padrão de distribuição do comportamento de piscar os olhos.

### 2.4.1 Análise circular

Esta análise foi utilizada para acessar se nossos dados eram distribuídos uniformemente, ou apresentavam um ou mais picos ao longo das 24 horas. Para tanto, a ocorrência dos eventos de piscar com sacada e piscar isolado foram projetados na unidade circular. Essa projeção transformou os dados em uma série temporal circular (em radianos), modelada enquanto uma mistura de distribuições de von Mises. A distribuição von Mises foi utilizada para construir um modelo de probabilidade de orientação, em sua forma geral:

$$f(\theta | \varphi_m, \kappa_m, \lambda_m) = \sum_m^M \lambda_m \frac{1}{2\pi I_0(\kappa_m)} e^{\kappa_m \cos(\theta - \varphi_m)} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde  $M$  é a soma das distribuições de probabilidade von Mises e  $\theta$  corresponde às 24 horas, representadas em radianos ( $0-2\pi$ ). Considerando  $m = 1, 2, 3 \dots M$  componentes da distribuição de von Mises, os ajustes dessa função recuperam os parâmetros  $\varphi$ ,  $\kappa$  e  $\lambda$  que correspondem, respectivamente:

- $\varphi$ , ao pico da função de ajuste (horário de pico de atividade);
- $\kappa$ , ao quanto da distribuição de von Mises se espalha ao redor de  $\varphi$ ;
- $\lambda$  ao parâmetro de proporção de mistura, variando entre 0 e 1.

Ainda,  $I_0(\kappa)$  é uma função de Bessel modificada de primeiro tipo e ordem 0, que opera como uma constante de normalização de  $f(\theta | \varphi, \kappa, \lambda)$ :

$$I_0(\kappa) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} e^{\kappa \cos \theta} d\theta \quad (\text{Eq. 2})$$

Nossa abordagem de modelagem circular foi motivada pela tentativa de encontrar a mistura mais parcimoniosa e confiável de distribuições de von Mises que pudesse ser facilmente relacionada a categorias canônicas de padrões de atividade ao longo das 24 horas (por exemplo: diurno, noturno). Com este objetivo em mente, usamos a abordagem de modelagem inicialmente descrita por Schnute e Groot (1992), que define um conjunto de dez modelos diferentes (ou seja, M1, M2A, M2B, M2C, M3A, M3B, M4A, M4B, M5A, M5B) a partir de uma mistura finita de até duas

distribuições de von Mises, dada por (Schnute & Groot, 1992).

De maneira geral, esses modelos se enquadram em três categorias: (i) modelo uniforme (M1) assume que a distribuição dos eventos é uniforme ao longo do intervalo analisado, (ii) modelos unimodais (M2A, M2B, M2C) com um pico de atividade ao longo das 24 horas e (iii) modelos bimodais (M3A, M3B, M4A, M4B, M5A, M5B) com dois picos de atividade. Os modelos bimodais podem ainda ser divididos em tipos: os axiais (M3A, M3B, M4A, M4B) e os não axiais (M5A, M5B); sendo que o primeiro tipo ocorre quando as médias de distribuição do modelo ocorrem em direções opostas ( $\varphi_2 = \varphi_1 + 180^\circ$ ).

Para avaliar o desempenho de ajuste relativo de cada um dos 10 modelos, nós utilizamos o pacote R CircMLE v0.2, desenvolvido por Fitak e Johnson (2017), e disponibilizado publicamente no CRAN (<https://cran.r-project.org/>) (Fitak & Johnson, 2017). A partir deste pacote de software, o método de estimativa de probabilidade máxima foi implementado, o que possibilitou medir a qualidade de ajuste e também classificar cada modelo de acordo com critérios de informação. Assim, o ajuste foi realizado para estimar os valores dos parâmetros livres de uma distribuição bimodal de von Mises. A função de log-verossimilhança é maximizada a partir da estimativa desses valores e é dada por:

$$L(Q) = \sum_{i=1}^n -\ln[f(\theta_i|Q)] \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que  $m$  representa os horários correspondentes às observações comportamentais dado o vetor comportamental de parâmetros do modelo  $Q = (\varphi_1, \kappa_1, \lambda, \varphi_2, \kappa_2)$ .

Todas as opções de ajuste padrão e restrições dos valores de parâmetros, utilizadas pelo CircMLE v0.2, foram mantidas inalteradas. Assim, para os modelos bimodais, a diferença angular mínima entre  $\varphi_1$  e  $\varphi_2$  foi fixada em  $\pi/4$  radianos, correspondendo a uma diferença mínima de tempo de 3 horas. O parâmetro  $\lambda$  foi mantido entre  $0,25 < \lambda < 0,75$ , minimizando a convergência em modelos bimodais sempre que uma grande discrepância no pico de distribuição de um comportamento ocorreu em um determinado momento em comparação com outro. Ademais, para evitar casos em que  $\kappa$  tendesse ao infinito, este parâmetro foi restringido a  $0 < \kappa \leq 227$  (aproximadamente 14 min). Sabendo que a distribuição de von Mises pode ser aproximada por uma distribuição normal, tem-se que:

$$\sigma \approx \frac{1}{\sqrt{\kappa}} \quad (\text{Eq. 4})$$

Em que  $\sigma$  é o desvio padrão da distribuição normal. Informações detalhadas sobre a fundamentação matemática subjacente (Eq. 4) podem ser encontradas em Mardia e Jupp (2018). Dada a aproximação acima, o intervalo de tempo contendo 95% das observações comportamentais enquadradas em um único componente  $m$  de von Mises, e denominada largura de banda ( $\beta_m$ ), foi calculado como

$$\beta_m = 2 * 1.96 \sigma_m \quad (\text{Eq. 5})$$

Em que o valor  $\sigma_m$  é calculado a partir da estimativa ajustada do componente de von Mises  $\kappa_m$  usando Eq.4.

O desempenho relativo de cada modelo ajustado dentro do conjunto  $\psi = \{\psi_i, i = M1, M2A, \dots, M5B\}$  foi avaliado utilizando uma abordagem de seleção de modelo baseada no Critério de Informação de Akaike (Akaike, 1974), dado por

$$AIC_i = -2 \log L \left( \widehat{Q} \right)_i + 2 \widehat{Q}_i \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que  $L \left( \widehat{Q} \right)_i$  é a função de log-verossimelhança para o modelo candidato  $i$  e

$\widehat{Q}$  é o vetor de valores de parâmetros estimados obtidos após o procedimento de ajuste para um determinado modelo. Assim, o melhor modelo é aquele que apresente o menor valor de AIC e, escolhê-lo equivale, aproximadamente, a optar pelo modelo com a menor perda de informação esperada, conforme estimado pela divergência de Kullback-Leibler. Informações detalhadas sobre os conceitos teóricos e formalismos matemáticos subjacentes a esse critério de informação são fornecidas em Burnham e Anderson (2002). Como os valores de AIC variam em uma escala relativa

e são muito afetados pelo tamanho da amostra de dados, relatamos suas diferenças ( $\Delta$ ) para o valor mínimo  $\min(AIC)$  em consideração, de modo que

$$\Delta AIC_i = AIC_i - \min(AIC) \quad (\text{Eq. 7})$$

Como regra geral, modelos cujo  $\Delta < 2$  são bem suportados, já os com valores entre 2 e 7 são raramente desconsiderados e aqueles que apresentem  $\Delta > 9$  têm pouco suporte.

Para verificar a uniformidade dos dados, nós utilizamos o teste Rayleigh. Este teste estatístico compara a probabilidade de os dados assumirem uma distribuição von Misses uniforme ( $k=0$ ) ou não uniforme ( $k>0$ ).

#### 2.4.2 Índices de Burstiness e Memória

Para compreender a origem da estrutura temporal do comportamento de piscar com sacada e piscar isolado, nós analisamos cada série temporal a partir do método introduzido por Goh e Barabási (2008) (Goh & Barabási, 2008). Este método, é utilizado na física e na estatística para caracterizar as propriedades de sistemas complexos cuja dinâmica seja de natureza intermitente (terremotos e comunicações por e-mail, por exemplo). Assim, para uma dada sequência  $n$  de intervalos entre eventos (IEIs), denotado  $\{\tau_i\}_{i=1, 2, \dots, n}$ , duas métricas foram computadas: (1) índice de Burstiness ( $B$ ); (2) índice de Memória ( $M$ ). Sendo a primeira dada por

$$B = \frac{\sigma_i - \langle \tau_i \rangle}{\sigma_i + \langle \tau_i \rangle} \quad (\text{Eq. 8})$$

Em que  $\langle \tau_i \rangle$  e  $\sigma_i$  são a média e o desvio-padrão de  $\{\tau_i\}_{i=1, \dots, n}$ , respectivamente.

Assim,  $B$  é uma medida normalizada do coeficiente de variação e, por ser independente da escala temporal, é uma boa medida para comparar a distribuição dos eventos para diferentes animais ou de um mesmo animal em diferentes situações. O índice de Burstiness varia entre os valores de -1 e 1.  $B = 1$  corresponde a um sinal totalmente intermitente;  $B = 0$  padrão randômico de distribuição dos eventos (Poisson);

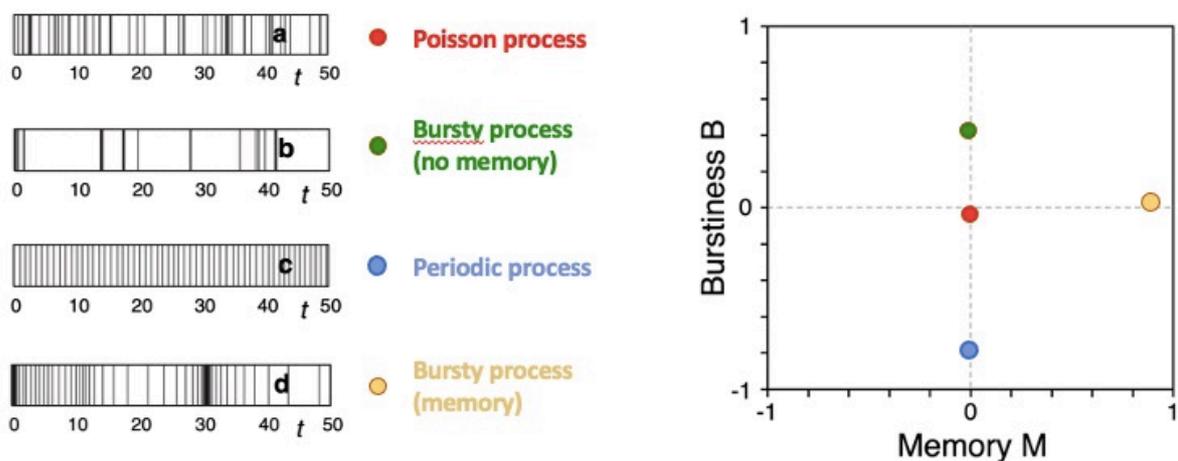
$B = -1$  corresponde a um sinal periódico, com intervalos entre eventos regulares ao longo da série temporal.

Assim como  $B$ , o índice de Memória também varia entre  $-1$  e  $+1$  e é importante para caracterizar a origem do padrão intermitente de uma distribuição de IEs. A partir desse coeficiente é possível correlacionar intervalos entre eventos consecutivos  $\{\tau_{i+1}\}_{i=1,\dots,n-1}$

$$M = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n-1} \frac{\langle \tau_i \tau_{i+1} \rangle - \langle \tau_i \rangle \langle \tau_{i+1} \rangle}{\sigma_i \sigma_{i+1}} \quad (\text{Eq. 9})$$

$\langle \tau_{i+1} \rangle$  e  $\sigma_{i+1}$  são a média e desvio-padrão de  $\{\tau_{i+1}\}_{i=1,\dots,n-1}$ , respectivamente. Valores positivos de  $M$  são encontrados quando o sistema exibe uma dinâmica do tipo intermitente e intervalos longos/curtos são seguidos por intervalos de mesmo tamanho. Valores negativos ocorrem quando intervalos longos/curtos são seguidos de intervalos inversamente proporcionais.

Considerando que o padrão intermitente pode emergir a partir dessas duas origens diferentes, Goh e Barabási (2008) sugerem que os parâmetros  $B$  e  $M$  sejam representados graficamente (Figura 2.1).



**Figura 2.1: Exemplos ilustrativos de valores  $B$  e  $M$  para diferentes processos geradores**

À esquerda, estão representados em gráficos de raster a ocorrência de eventos discretos a partir de diferentes processos geradores. **(A)** Processo de Poisson, quando a probabilidade de um evento é independente do tempo; **(B)** Processo intermitente, emerge da alta variabilidade dos intervalos entre eventos; **(C)** Periódico, emerge da regularidade dos eventos; **(D)** Intermitente, ao introduzir a memó-

ria. Os valores de B e M obtidos para essas diferentes séries temporais são plotados no lado direito (adaptado de Goh e Barabási, 2008).

## 2.4 Análise estatística

Para checar a normalidade dos dados, nós realizamos o teste de Shapiro-Wilk. Caso verificada, utilizamos o teste T ou o teste ANOVA para comparar as médias entre duas populações ou mais de duas populações, respectivamente. Do contrário, foi utilizado o teste de Wilcoxon 'signed ranks'.

Para análise de medidas repetidas, nós utilizamos o teste de Friedman. Caso alguma diferença relevante fosse encontrada, uma análise posterior utilizando o teste de Dunn, foi realizada para precisar se a diferença é estatisticamente relevante. O nível de significância usado para todos os teste foi  $P < 0,05$ . Ademais, nós utilizamos o método de correlação de distância, introduzido por Székely e colaboradores (2007), para analisar a dependência entre as variáveis circulares do comportamento de piscar e as variáveis lineares de temperatura e umidade relativa (Székely et al., 2007). Quando  $R = 0$ , significa que essas variáveis são independentes.

Vários testes estatísticos padrão foram computados usando Matlab (versão R2016b, MathWorks, Natick, MA); o software estatístico JMP (versão 14.3.0, SAS Institute, Cary, NC); ou o software estatístico R (versão 4.2.0, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) para os dados circulares.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Resultados gerais

Para entender melhor a contribuição da luz do dia para a distribuição do comportamento de piscar, dividimos as 24 horas em quatro categorias diárias: dia, noite, crepúsculo matutino e crepúsculo vespertino; e duas sub-categorias: manhã e tarde. Os horários fornecidos por Steffen Thorsen de © Time and Date AS 1995-2021 foram usados para dividir o dia nessas categorias (e sub-categorias). Consideramos como crepúsculo: (i) o crepúsculo astronômico, que se inicia com o início do amanhecer astronômico (quando o sol está 18° abaixo do horizonte antes do nascer do sol) e; (ii) o último estágio do crepúsculo vespertino (quando o sol está 18° abaixo do horizonte após o pôr do sol). A duração do dia e da noite é determinada pelo tempo entre o início e o fim de cada um desses períodos. Em algumas análises os períodos de crepúsculo eram agrupados à noite. Nos dias em que os animais foram gravados, o período de duração média do dia foi de 11:14 ± 00:10 (hh:mm ± SD), considerando que o horário nascer do sol foi 06:24 ± 00:06 enquanto o pôr do sol foi às 17:38 ± 00:04. O crepúsculo (tanto matutino como vespertino) teve duração média de 01:16 ± 00:01, com o amanhecer iniciando às 05:07 ± 00:04 e terminando às 06:23 ± 00:06; já o anoitecer, teve início às 17:38 ± 00:04 e término às 18:54 ± 00:02.

Ao longo estudo, a porcentagem média (±, desvio-padrão) de piscar com e sem sacada para os seis animais foi de 3,36% ± 0,89, considerando o período total de 24 horas. A contagem média de piscares com sacadas e piscares isolados foi de 2.588,5 (± 690,05) e 312,33 (± 187,6), correspondendo, respectivamente, a 89,5% e 10,5% do total de piscar. Ambos os comportamentos foram distribuídos ao longo de cada hora do dia com uma taxa mediana de 1,77 (IQR, 0,55) para piscar com sacada e 0,21 (IQR, 0,28) eventos/min para piscar isolado.

## 3.2 Análise das taxas

### 3.2.1 Distribuição circular dos eventos

Devido à natureza de 24 horas de nossos dados, decidimos analisar a distribuição do comportamento de piscar de olhos utilizando uma análise circular. A Figura 3.1 mostra a distribuição dos comportamentos de piscar com sacada e piscar isolado ao longo do período total de observação, para cada animal analisado. Os resultados da seleção de modelo são relatados na tabela 3.1.

Para as seis corujas analisadas, ambos os comportamentos de piscar apresentaram uma distribuição não-uniforme ao longo de 24 horas (teste de Rayleigh:  $p < 0,05$ ). As médias direcionais para os melhores ajustes de Von Mises, tanto para o piscar com sacada como para o piscar isolado, apresentaram pelo menos um pico durante, ou próximo, ao período da tarde. Nenhuma diferença significativa entre os horários desse foi encontrada ao comparar os comportamentos de piscar com sacada e piscar isolado (teste de Watson-Williams,  $F = 0,0787$ ,  $p > 0,05$ ).

Com relação ao piscar com sacada (figura 3.1A), a maioria das corujas tiveram como modelo selecionado um modelo bimodal (AC1301: **M5A**, AC1408: **M4A**, AC1409: **M5B**, AC1601: **M4B**). A coruja AC1301, apresenta um pico de distribuição no período da noite e outro no período da tarde ( $\varphi_1 = 14h15$ ,  $\varphi_2 = 0h46$ ), e sua distribuição assume uma dispersão uniforme dos dados, dado que este modelo restringe que  $\beta_1 = \beta_2$  (10h50). Assim como a coruja AC1301, a AC1408 apresenta as duas médias direcionais apontadas para o período da tarde e da noite, com exatamente 12 horas de diferença entre elas ( $\varphi_1 = 12h09$ ,  $\varphi_2 = 0h09$ ). Os dados desta coruja estão bastante dispersos ao redor das médias direcionais ( $\beta_{1,2} = 15h24$ ) e, apesar de apresentarem maior proporção ao redor da primeira média ser maior ( $\lambda = 0,732$ ), concentram-se dentro de um intervalo que é maior que 12 horas. A coruja AC1601 também apresenta médias direcionais opostas no período da tarde e da noite ( $\varphi_1 = 15h20$ ,  $\varphi_2 = 3h20$ ), com os dados amplamente distribuídos ao redor dos dois picos ( $\beta_1 = 16h15$ ,  $\beta_2 = 10h15$ ), todavia mais concentrados em torno da primeira média ( $\lambda = 0,713$ ). No caso da coruja AC1409, por sua vez, um dos picos encontram-se direcionados para o período da tarde e da manhã ( $\varphi_1 = 17h32$ ,  $\varphi_2 = 8h16$ ). Olhando apenas para este parâmetro, poderia-se pensar que esta coruja apresenta um perfil de distribuição

diurno para o piscar. Porém, ao observar os parâmetros de largura de banda e  $\lambda$ , vemos que este comportamento encontra-se amplamente distribuído ao longo das horas ( $\beta_1 = 9h55$ ,  $\beta_2 = 22h49$ ), com maior concentração entorno do segundo pico ( $\lambda = 0,25$ ).

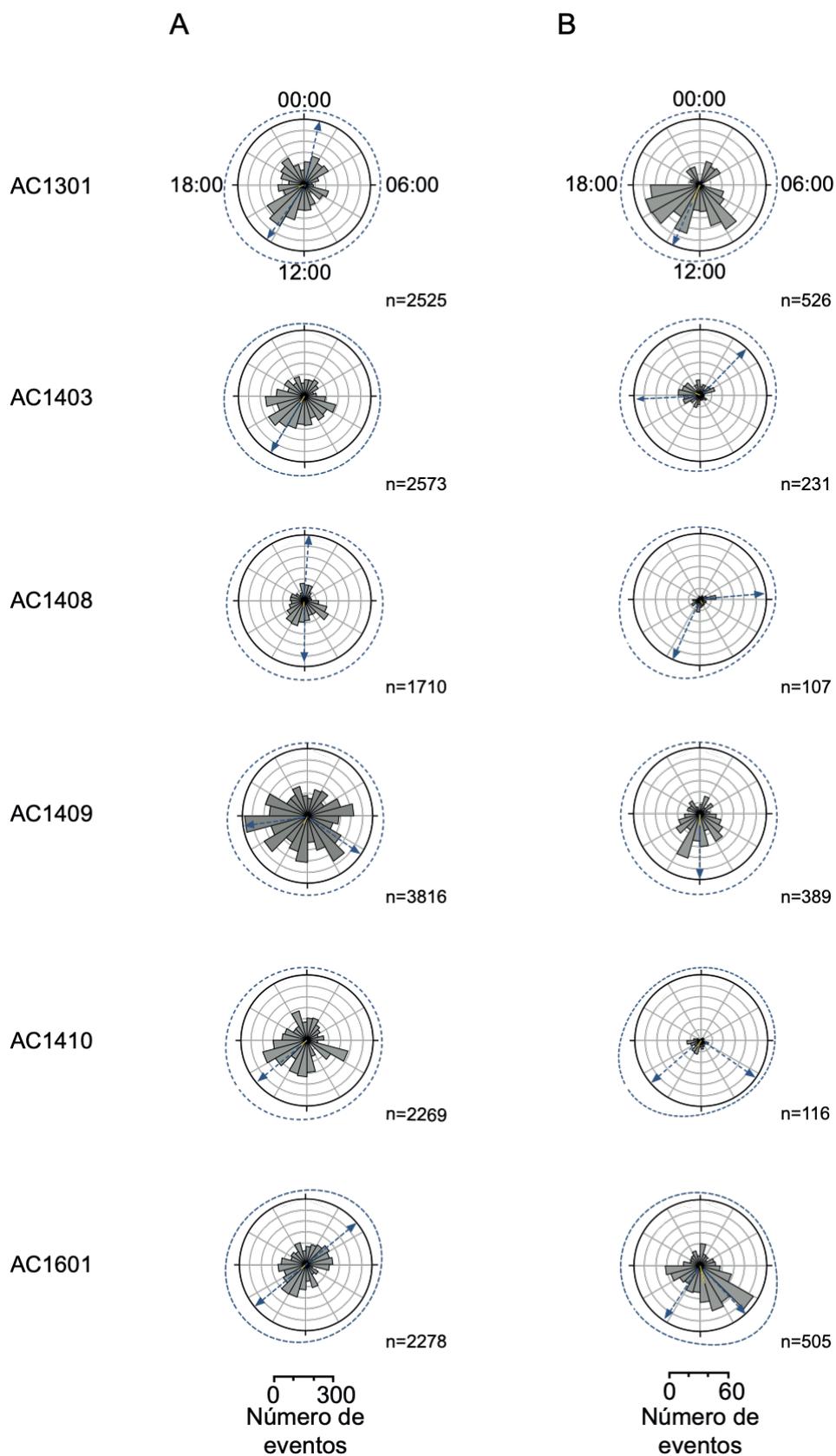
Ademais, para as duas outras corujas os modelos selecionados para o piscar com sacada foram de tipo unimodal, (AC1403 **M2A** e AC1410 **M2C**). Assim, a média direcional da coruja AC1403 encontra-se apontada para unicamente para o período da tarde ( $\varphi_1 = 14h07$ ). Porém, ao observarmos os dados de largura de banda ( $\beta_1 = 23h16$ ) e a proporção destes eventos entorno da média ( $\lambda = 1$ ), vemos que o comportamento desta coruja está amplamente distribuído ao longo das 24 horas. Vale a pena observar pela tabela 3.1A que o segundo modelo selecionado para esta coruja foi o modelo M5A, um modelo bimodal homogêneo que assume que a variância dos dados é uniforme. A coruja AC1410 também apresentou um único pico no período da tarde ( $\varphi_1 = 14h10$ ), mas apesar de ter essa tendência de apresentar mais eventos de piscar com sacada à tarde, este comportamento também encontra-se espalhado ao longo dos outros períodos ( $\lambda = 0,251$ ). Isso fica evidente ao olharmos a figura 3.1A e, ainda, ao observar que o segundo modelo selecionado para este animal foi o modelo M4B.

A partir do exposto acima, podemos concluir que, os eventos de piscar com sacada encontram-se bem dispersos ao longo das 24 horas (dado a largura de banda) e que essa dispersão é quantitativamente significativa, conforme indicado por  $\lambda$ . Ademais, foi possível observar uma tendência das corujas piscarem mais à tarde, uma vez que todas apresentaram um pico de piscar com sacada neste período. Ao analisar o piscar isolado (Figura 3.1B), vemos que as corujas também apresentam um dos picos no período da tarde. Ao comparar os horário de pico da tarde, dos comportamentos de piscar com sacada e piscar isolado, nenhuma diferença significativa entre foi encontrada (teste de Watson-Williams,  $F = 0,0787$ ,  $p > 0,05$ ).

Com relação ao comportamento de piscar isolado, apesar de apresentar menos números de eventos, vemos que existe uma mesma tendência de distribuição ao longo das 24 horas. Das quatro corujas que apresentaram um padrão de distribuição bimodal, duas tiveram o modelo homogêneo como o escolhido (AC1403: **M5A**,  $\beta_{1,2} = 14h13$ ; AC1408: **M5A**,  $\beta_{1,2} = 10h51$ ) e as outras duas, o modelo bimodal (AC1410: **M5B**, AC1601: **M5B**). Com relação à coruja AC1403 as médias direcionais

para ocorrerem no período da tarde e da noite. A partir do parâmetro lambda, vemos que o comportamento de piscar isolado desta coruja, encontra-se mais concentrado entorno da primeira média direcional ( $\varphi_1 = 17h48$ ,  $\lambda = 0,686$ ). Já no caso da coruja AC1408, dado que a proporção dos dados ao redor das médias direcionais é de próxima à 50% ( $\lambda = 0,52$ ), podemos dizer que os dados encontram-se bem distribuídos ao longo das 24 horas. As corujas AC1410 e AC1601, apresentam suas médias direcionais apontadas para os períodos da tarde e da manhã (AC1410:  $\varphi_1 = 15h17$ ,  $\varphi_2 = 8h21$ ; AC1601  $\varphi_1 = 14h40$ ,  $\varphi_2 = 9h15$ ). Com relação a coruja AC1410, que apresenta uma largura de banda um pouco menor com relação à primeira média direcional, vemos que, de toda forma, esta média concentra a maior proporção dos dados ( $\beta_1 = 23h16$ ,  $\lambda = 0,64$ ). Ainda, na tabela 3.1B, é possível verificar que o segundo modelo para este animal seria unimodal M2A, com  $\lambda = 1$ . Os dados apresentados na tabela 3.1B para a coruja AC1601, mostram que o comportamento de piscar isolado para este animal encontra-se amplamente disperso ao longo das 24 horas ( $\beta_1 = 23h49$ ,  $\beta_2 = 6h31$ ), com uma proporção maior desses eventos concentrados ao redor da primeira média direcional ( $\lambda = 0,749$ ).

Para os animais AC1301 e AC1409, modelos unimodais foram selecionados (AC1301,  $\varphi_1 = 13h35$ ; AC1409,  $\varphi_1 = 11h58$ ). Apesar de apresentarem apenas uma média direcional, podemos ver, para ambas, que os comportamentos encontram-se dispersos ao longo das 24 horas (AC1301:  $\beta = 12h48$ ,  $\lambda = 0,659$ ; AC1409:  $\beta = 12h02$ ,  $\lambda = 0,5$ ).



**Figura 3.1: Distribuição circular do piscar ao longo de 24 horas**

Os histogramas circulares (barras cinzas) representam a quantificação dos comportamentos em bins de 60 minutos. A densidade (linha tracejada) e a(s) direção(ões) média(s) (setas azuis tracejadas) do melhor modelo são fornecidas. **(A)** Distribuição circular do piscar com sacada **(B)** sem sacada (isolado). Todas as corujas apresentam pelo menos um pico à tarde, para ambos os comportamentos.

**Tabela 3.1A: Resumo dos resultados da seleção de modelo para piscar com sacada**

Análises	Variável	Corujas					
		AC1301	AC1403	AC1408	AC1409	AC1410	AC1601
Tamanho Amostral	N	2525	2573	1710	3816	2629	2278
Teste de Rayleigh	R	1,41E-01	2,31E-01	1,92E-01	1,25E-01	1,65E-01	7,22E-02
	P	1,61E-22	1,17E-46	3,7E-28	1,7E-26	1,01E-31	7,01E-06
$\Delta$ do Modelo AIC	M1	188,654	209,808	144,431	190,461	152,762	122,271
	M2A	91,787	<b>0</b>	20,911	75,324	13,04	102,503
	M2B	88,302	2,694	12,665	81,627	7,334	98,268
	M2C	57,705	2,347	138,004	123,955	<b>0</b>	241,75
	M3A	94,46	208,895	123,715	130,045	139,221	19,622
	M3B	37,804	5,129	9,388	84,409	4,325	2,019
	M4A	43,814	19,005	<b>0</b>	91,644	8,662	0,009
	M4B	13,832	26,544	12,808	92,13	1,743	<b>0</b>
	M5A	<b>0</b>	1,788	1,733	8,954	8,504	2,006
	M5B	46,217	116,052	3,188	<b>0</b>	6,025	1,926
Ângulo BM	$\varphi_1$	14h15	14h07	12h09	17h32	15h10	15h20
	$\varphi_2$	0h46	-	0h09	8h16	-	3h20
Largura BM	$\beta_1$	10h51	23h16	15h24	9h55	11h19	16h15
	$\beta_2$	10h51	-	15h24	22h49	-	10h15
Lambda	$\lambda$	0,598	1	0,732	0,25	0,251	0,713

O tamanho amostral (N) refere-se à contagem de comportamentos para cada coruja. O resumo do teste de Rayleigh mostra a magnitude média do vetor (R) e o p-valor (P). O  $\Delta$  do modelo de AIC indica a diferença entre o valor de AIC do modelo selecionado e o melhor modelo. Os melhores modelos estão indicados em negrito. Ângulo BM ( $\varphi_m$ ): ângulo de direção médio para o melhor modelo expresso em horas (h: min). Largura BM ( $\beta_m$ ): indica o intervalo de dispersão dos dados, para o melhor modelo em torno da média - concentra 95% dos dados -, dada em horas (h:min). Lambda ( $\lambda$ ) representa o tamanho proporcional da primeira distribuição em relação a segunda. Para obter informações mais detalhadas, consulte a seção Materiais e Métodos.

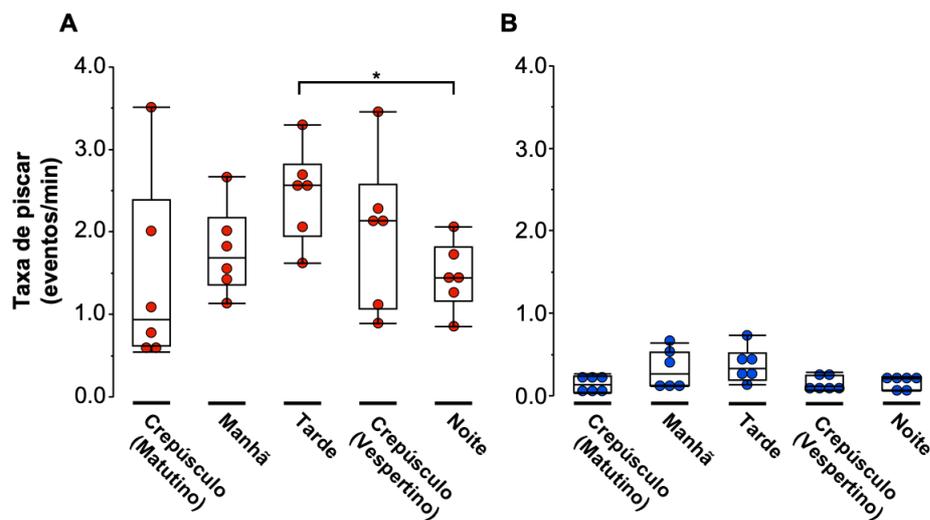
**Tabela 3.1B: Resumo dos resultados da seleção de modelo para piscar isolado**

Análises	Variável	Corujas					
		AC1301	AC1403	AC1408	AC1409	AC1410	AC1601
Tamanho Amostral	N	526	231	107	389	116	505
Teste de Rayleigh	R	3,65E-01	2,43E-01	3,43E-01	3,09E-01	4,83E-01	3E-01
	P	4,27E-31	1,13E-06	3,5E-06	7,83E-17	1,72E-12	1,65E-20
$\Delta$ do Modelo AIC	M1	143,559	24,367	27,987	74,408	54,867	105,44
	M2A	2,676	0,566	6,07	2,368	1,039	16,178
	M2B	2,126	0,708	11,691	<b>0</b>	3,073	13,857
	M2C	<b>0</b>	38,694	10,163	1,815	1,489	15,855
	M3A	128,748	23,859	27,86	69,156	46,01	94,894
	M3B	6,77	2,71	14,61	2,019	7,239	15,857
	M4A	6,468	4,687	22,384	4,591	13,021	21,252
	M4B	5,972	8,906	18,394	9,163	4,502	17,762
	M5A	9,018	<b>0</b>	<b>0</b>	6,12	2,847	14,494
	M5B	10,106	1,857	1,856	4,864	<b>0</b>	<b>0</b>
Ângulo BM	$\varphi_1$	13h35	17h48	13h39	11h58	15h17	14h40
	$\varphi_2$	-	2h55	5h40	-	8h21	9h10
Largura BM	$\beta_1$	12h48	14h13	10h51	12h02	9h15	23h49
	$\beta_2$	-	14h13	10h51	-	15h51	6h31
Lambda	$\lambda$	0,659	0,686	0,52	0,5	0,64	0,749

Legenda em: Tabela 3.1A.

### 3.2.2 Distribuição do piscar nos diferentes períodos do dia

A comparação das taxas entre os períodos diurno e noturno mostrou que, durante o período de análise, as corujas piscaram menos à noite do que durante o dia (piscar com sacada:  $t = -4,49$ ,  $p = 0,0032$ ; piscar isolado:  $t = -2,539$ ,  $p = 0,026$ ). Em seguida, fizemos uma avaliação mais detalhada das distribuições dos eventos ao longo do dia (considerando sua divisão em categorias e sub-categorias). A partir desta análise, verificou-se que há diferenças significativas entre as categorias diárias tanto para o piscar com sacada (teste de classificação de Friedman:  $X^2 = 10,8$ ,  $p = 0,0289$ ; Figura 3.2A) quanto para o piscar isolado (teste de classificação de Friedman:  $X^2 = 9,6$ ,  $p = 0,0477$ ; Figura 3.2B). A análise post-hoc revelou que essa diferença foi apenas significativa para o comportamento de piscar com sacada, ao comparar as categorias, noturno e crepúsculo vespertino, com a tarde (Noite:  $p = 0,0205$ ; Crepúsculo vespertino:  $p = 0,0284$  teste Dunn).

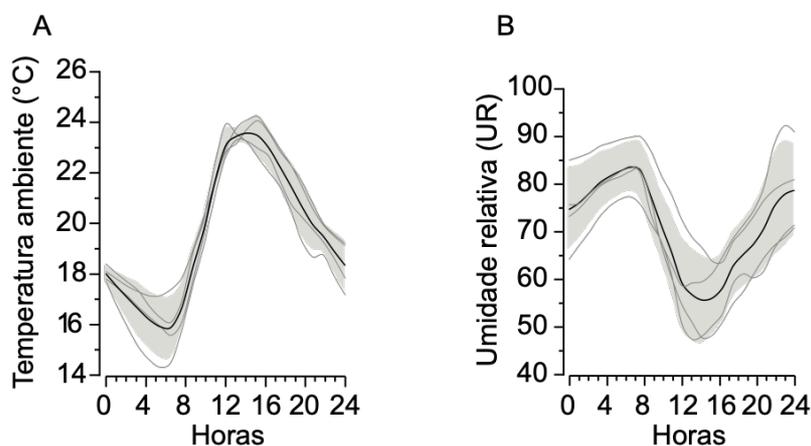


**Figura 3.2: Taxa de piscar em diferentes períodos do dia.**

Comparação entre as taxas por minuto encontradas para (A) piscar com sacada e (B) piscar isolado nos períodos da manhã, tarde, noite e crepúsculos (matutino e vespertino).

### 3.2.3 Correlação com a temperatura e a umidade relativa do ar

A figura 3.3 reúne os dados de temperatura e umidade relativa do ar coletados durante a aquisição dos dados de 24 horas. A partir do método de correlação de distância, nós verificamos se as variáveis de piscar com sacada e piscar isolado (apresentadas na figura 3.1) são dependentes das variações de temperatura e umidade (Fig. 3.3). A correlação entre esses dados foi feita apenas para quatro animais. Os resultados encontrados apontam para uma forte correlação de dependência entre o comportamento do piscar e as variações de temperatura ( $R = 0,85$ ,  $p < 0,0001$ ) e umidade relativa do ar ( $R = 0,85$ ,  $p < 0,0001$ ).

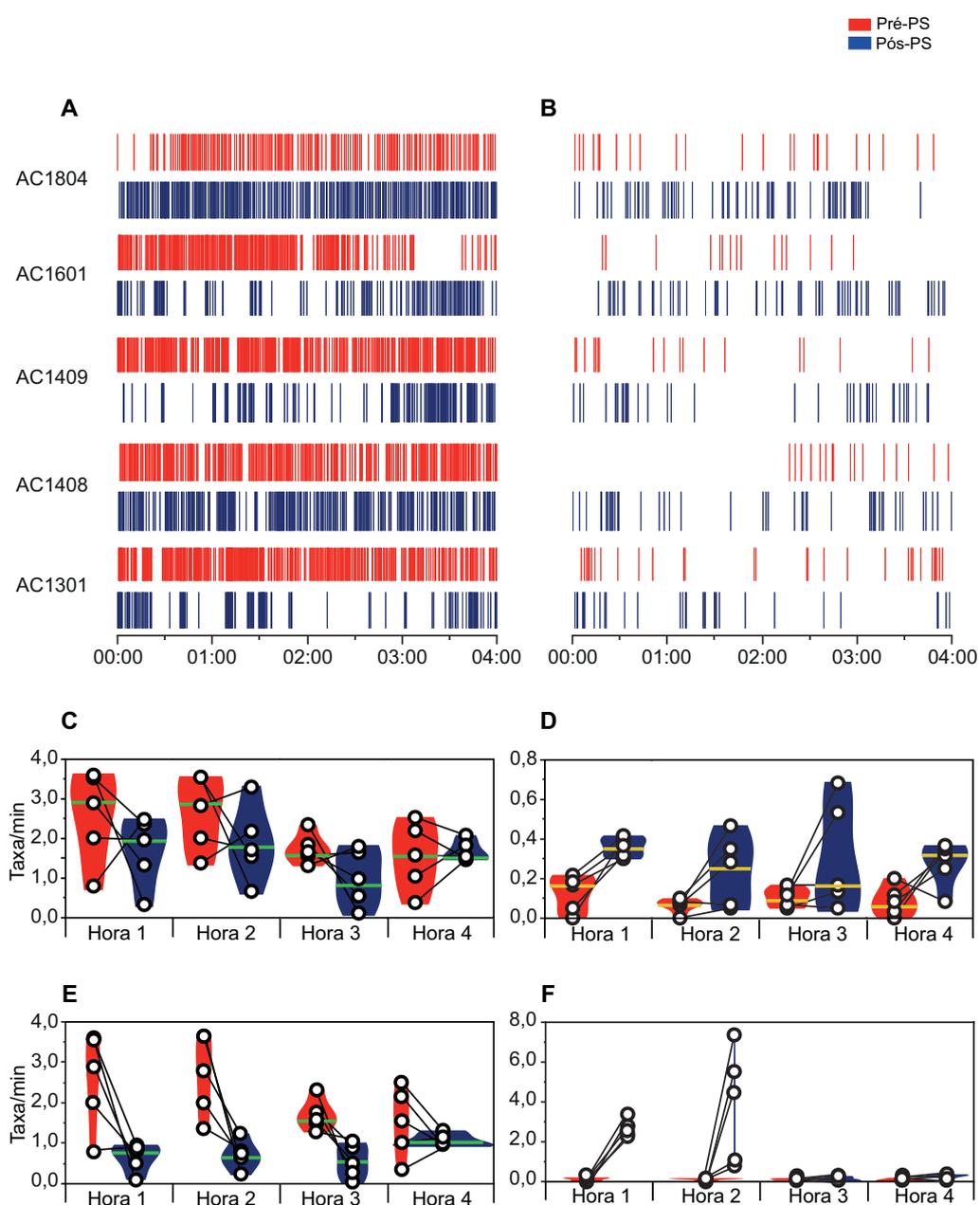


**Figura 3.3: Resumo dos dados da temperatura ambiente e umidade relativa do ar ao longo das 24 horas de gravação de vídeo.**

(A) Média da temperatura ambiente e (B) umidade relativa do ar, ao longo das 24 horas, a partir da interpolação de dados com 3 minutos de resolução. Área sombreada representa o erro padrão da média e as linhas em cinza a medida para cada coruja ( $n = 4$ ). Esses dados foram correlacionados com os dados de piscar com sacada e piscar isolado para as corujas: AC1301, AC1408, AC1409, AC1601 representados na figura 3.1. (Adaptado de Cíntia Garcia, 2022).

### 3.2.4 Efeito da privação de sono

Para a análise desses dados, os períodos de pré e pós PS foram divididos em quatro janelas temporais, denominadas por Bloco # pré e pós PS. O Bloco 1, corresponde as primeiras 4 horas - do total de 24 horas - da coleta dos dados pré e pós PS ( $n = 5$  corujas). Cada um dos blocos posteriores ( $n = 4$  corujas) compreende uma janela de tempo de 2 horas. Entre um bloco e outro há um intervalo de tempo, durante o qual os comportamentos não são computados. Esse intervalo é de 2 horas entre os Blocos 1 e 2 e de 4 horas entre os Blocos remanescentes (Blocos 2 e 3; Blocos 3 e 4).



**Figura 3.4: Efeito da privação de sono no piscar**

Ocorrência dos eventos de piscar ao longo do Bloco 1 (4 horas) pré (vermelho) e pós privação (azul), para cada coruja. (A) Piscar com sacada; (B) Piscar isolado; (C) e (D) representam a variação de taxa/min de piscar com sacada e piscar isolado, respectivamente, ao longo do bloco 1; para avaliar as diferenças inter-individuais, as taxas/min (pós PS) de piscar com sacada (E) e piscar isolado (F) foram normalizadas pela média daquele mesmo horário no dia de base (pré PS). A mediana de cada hora (pré e pós privação) é marcada em verde (C), (E) e amarelo (D), (F).

A figura 3.4 A-B, apresenta a ocorrência dos eventos de piscar com sacada e piscar isolado - respectivamente -, nas primeiras 4 horas antes e após a PS (Bloco 1). Há uma redução discreta quanto ao número de ocorrências do piscar com sacada após a PS (exceto para a coruja AC1804) enquanto para o piscar isolado, um nítido aumento de frequência pode ser observado. Para averiguar se essas alterações foram estatisticamente relevantes, nós analisamos a variação da taxa de piscar por minuto nas horas correspondentes ao Bloco 1, pré e pós PS (Figura 3.4 C-D). Um efeito significativo foi encontrado para a variável tratamento, principalmente considerando o piscar isolado (piscar com sacada:  $F = 4,6018$   $p < 0,0396$ ; piscar isolado:  $F = 22,7286$   $p < 0,0001$  teste ANOVA de duas vias).

No intuito de avaliar o impacto das diferenças inter-individuais na taxa de piscar (com sacada e isolado) após a PS, as taxas apresentadas pelos animais, para cada hora após a PS, foram divididas pela média de taxa do horário correspondente no período pré-PS. Além disso, por motivos técnicos, os protocolos de PS finalizaram em dois períodos circadianos diferentes: às 18h03 e 18h09 (para as corujas AC1601 e AC1301) e às 16h01, 16h27 e 16h34 para as outras três corujas (AC1408, AC1409, AC1804). Assim, foi também avaliado a interação entre a variável animais e horas de cada protocolo de tratamento. Por fim, considerando que o nosso número de animais é apenas uma amostra representativa da população, foi atribuído a esta variável um efeito randômico.

Os resultados dessa análise apontam para uma baixa dispersão entre os valores das taxas apresentadas pelos animais (piscar com sacada:  $\sigma^2 = 0,0206002$   $p = 0,7074$ ; piscar isolado:  $\sigma^2 = 0,025489$   $p = 0,7642$  Estimadores dos componentes de variância REML). Entretanto, um aumento dessa variabilidade é encontrado a partir da interação entre animais e horas de tratamento (piscar com sacada:  $\sigma^2 = 0,4340116$   $p < 0,0001$ ; piscar isolado:  $\sigma^2 = 1,8365786$   $p < 0,0001$  Estimadores dos componentes de variância REML). Para o piscar com sacada, um efeito significativo foi encontrado ao considerar as horas de cada protocolo de tratamento como um fa-

tor de variação ( $F = 13,0320$   $p < 0,0001$ ). Já para o piscar isolado, um efeito significativo foi encontrado ao considerar as horas de cada protocolo de tratamento como um fator de variação ( $F = 12,8679$   $p < 0,0001$ ) como as horas de tratamento, independentemente de ser pré ou pós- PS ( $F = 8,3228$   $p = 0,0004$ ). A partir dessa análise, vimos que não houve diferença, inter-individual, do efeito da privação de sono no piscar - mesmo o protocolo de PS tendo iniciado em dois horários diferentes.

### 3.3 Análise dos intervalos entre eventos (IEEs)

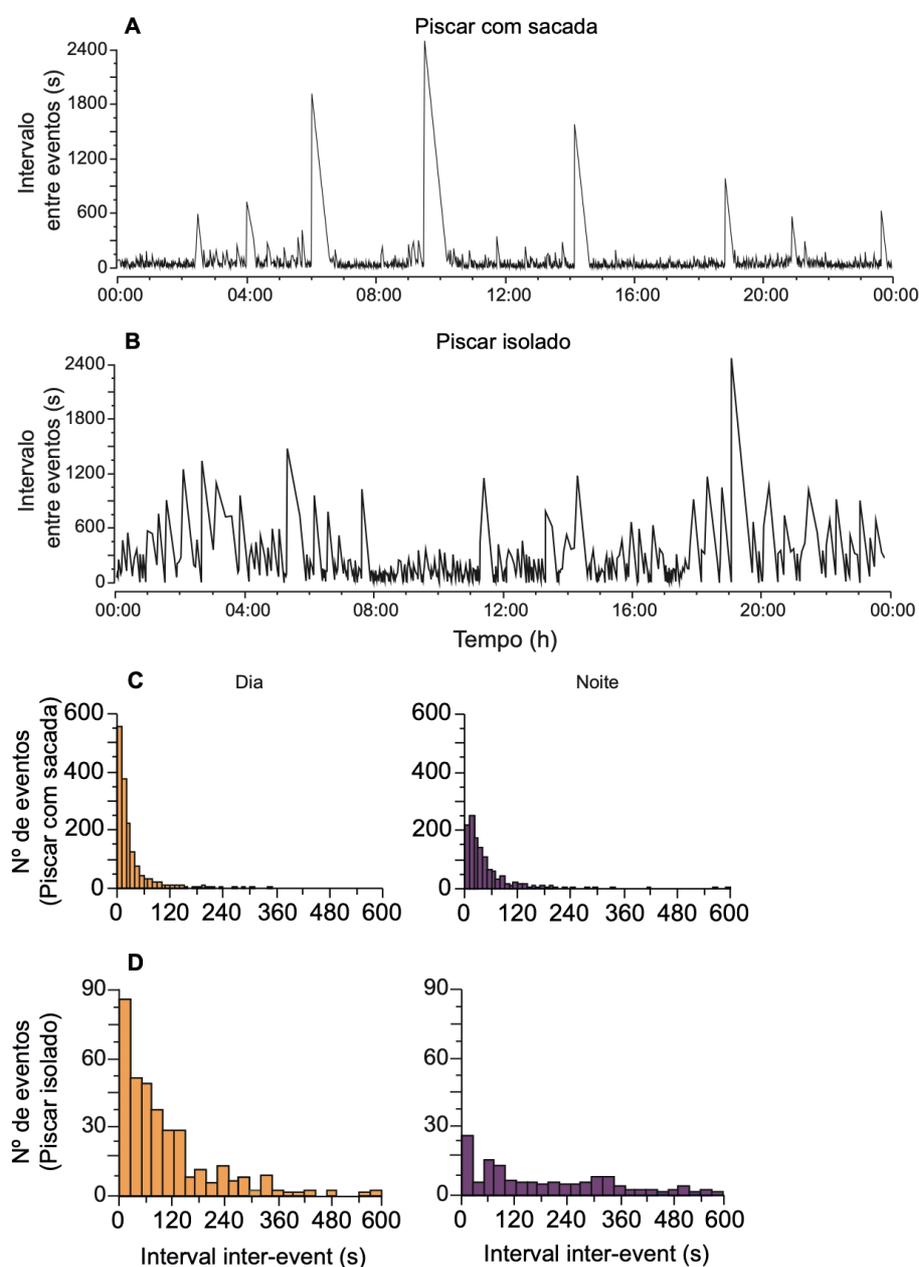
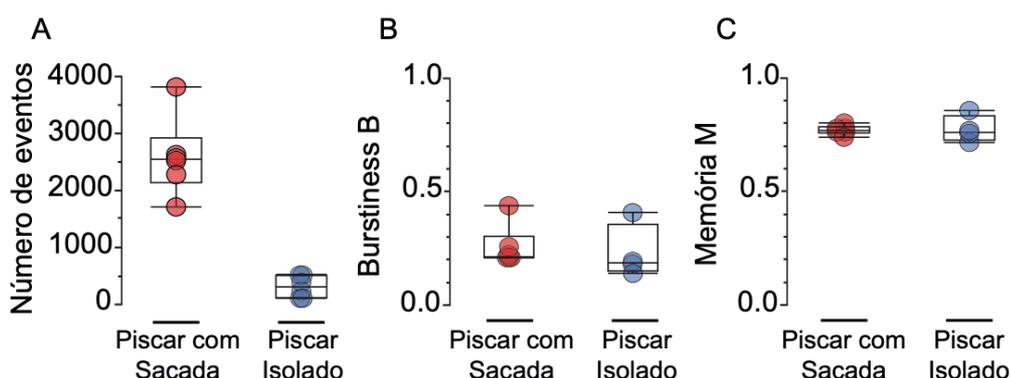


Figura 3.5: Exemplo da distribuição dos intervalos entre eventos (IEEs)

Exemplo representativo da distribuição dos IEEs para o piscar com sacada **(A)** e para o piscar isolado **(B)**; **(C)** e **(D)** representam a distribuição dos IEEs para o piscar com sacada e piscar isolado, respectivamente, no dia (amarelo escuro) e na noite (roxo).

Um exemplo ilustrativo da distribuição dos IEEs de piscar com sacada e piscar isolado, ao longo das 24 horas, é amostrado na figura 3.5 A-B. A partir dessa figura é possível observar que há um aumento dos eventos de piscar durante curtos períodos de tempo, seguidos por períodos longos em que a atividade é reduzida. Considerando os períodos do dia e da noite, a distribuição dos IEEs exibiu um perfil de cauda longa inclinada, tanto para o piscar com sacada (Figura 3.5C) como para o piscar isolado (Figura 3.5D), sugerindo que este comportamento não pode ser explicado por um processo homogêneo. Para compreender melhor a dinâmica de distribuição dos comportamentos de piscar com sacada e piscar isolado, nós utilizamos duas métricas de distribuição de probabilidades dos IEEs (conforme descrito nos Materiais e Métodos, 2.4.2), conhecidas como índice de burstiness (B) e coeficiente de memória (M).

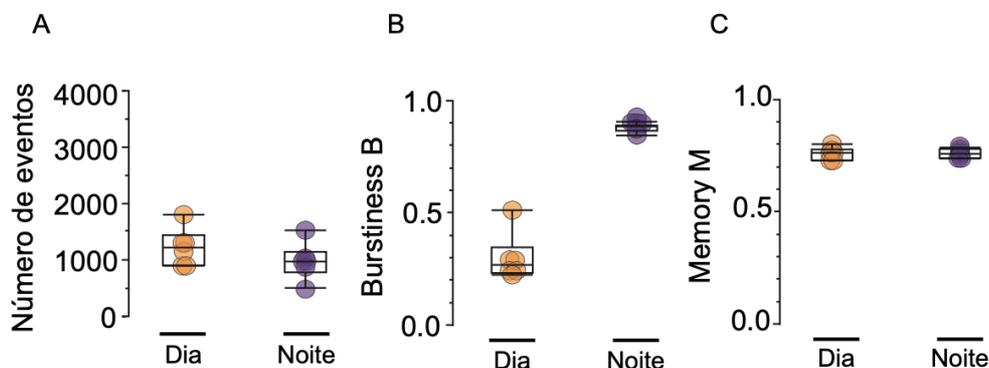


**Figura 3.6: Dinâmica de distribuição temporal do piscar**

Comparação da dinâmica temporal do piscar com sacada (vermelho) e do piscar isolado (azul) ao longo das 24 horas. **(A)** Número de eventos; **(B)** Índice de Burstiness; **(C)** Índice de memória; Os resultados mostram que a dinâmica é independente do número de eventos.

Ao longo das 24 horas, os índices B e M apresentaram valores positivos, e independente do número de comportamentos, tanto para o piscar com sacada como para o piscar isolado (Figura 3.6). Esses resultados sugerem que o piscar segue um padrão de distribuição que não pode ser explicado por um mecanismo randômico e nem homogêneo, mas sim intermitente, com origem principalmente no efeito da memória. Para averiguar se essa estrutura é conservada ao longo do dia, nós analisamos os índices de B e M, para o piscar com sacada, nos períodos do dia e da noite (Figura 3.7). Embora ambos os períodos apresentem um número de eventos simi-

lares, a característica intermitente parece ser mais acentuada à noite ( $B \approx 1$ ). Esse resultado aponta para um possível efeito da luz sobre o piscar.

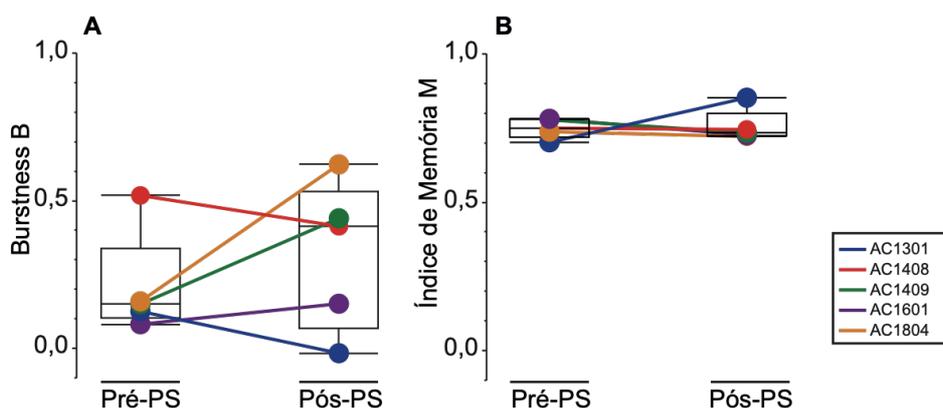


**Figura 3.7: Caracterização do piscar nos diferentes períodos do dia**

Comparação entre a dinâmica do piscar com sacada no dia (amarelo escuro) e na noite (roxo) para o piscar com sacada. **(A)** Número de eventos; **(B)** Índice de Burstiness; **(C)** Índice de Memória.

### 3.3.1 Efeito da privação de sono

O impacto da PS na dinâmica temporal do piscar foi analisado a partir do cálculo dos índices de B e M para os eventos de piscar com sacada pré e pós PS. Essa análise foi feita apenas para o Bloco 1, uma vez que o número limitado de eventos encontrado nos outros blocos poderia ser um viés para o estudo. A figura 3.8 mostra os valores de B e M, pré e pós privação, encontrados para cada animal. Nenhuma diferença estatística foi encontrada para os índices B e M (Teste de Wilcoxon dos sinais '*signed ranks*', B:  $S = 2,5$   $p = 0,625$ ; M:  $S = 2,5$   $p = 0,625$ ). Esse resultado mostra que a estrutura temporal deste comportamento é conservada após a privação de sono.



**Figura 3.8: Impacto da privação de sono na dinâmica do piscar.**

**(A)** Índice de Burstiness; **(B)** Índice de memória. A dinâmica do piscar foi conservada após a privação de sono).

## 4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, nós caracterizamos, de forma inédita, a dinâmica do piscar na coruja-buraqueira, através da análise de vídeos de 24 horas em um ambiente semi-natural. A gravação de vídeos para aquisição de dados amostrais permite o acesso a atividade do animal em estudo e sua anotação de forma precisa (Gilestro, 2012). Além disso, essa metodologia também viabiliza a criação de um banco de dados com todo o repertório de comportamentos de uma dada espécie, podendo ser utilizado em mais de um projeto.

Contudo, considerando que nossos dados foram obtidos a partir de uma análise em cativeiro, alguns padrões da atividade do animal podem ser enviesados, dado a ausência de algumas demandas ecológicas. Por outro lado, dados obtidos em laboratório também podem trazer informações tendenciosas quanto a dinâmica de um comportamento, uma vez que as condições a qual o animal é exposto são artificiais e determinadas pressões ambientais, inexistentes (Barak & Kronfeld-Schor, 2013; Levy et al., 2007). Como o propósito deste estudo era quantificar e caracterizar a dinâmica de um comportamento natural, nós entendemos que os dados obtidos a partir das gravações em cativeiro seriam uma representação mais fiel da estrutura temporal em um ambiente natural. Os principais achados desse estudo são sumarizados a seguir: 1) o piscar com sacada é predominante em relação ao piscar isolado; 2) há uma associação entre o piscar e o estado central, traduzido num aumento do piscar com sacadas durante o repouso e do piscar isolado a medida em que há um aumento da propensão para fechar os olhos; 3) tanto o piscar com sacada como o piscar isolado apresentam uma distribuição não uniforme ao longo das 24 horas com um pico de distribuição no período da tarde; 4) o piscar apresenta uma alta correlação de dependência das variações de temperatura e umidade relativa; 5) uma redução da taxa de piscar com sacada foi observada após a privação de sono (PS) junto de um aumento expressivo da taxa de piscar isolado; 6) a distribuição dos intervalos entre eventos (IEEs), ao longo do dia e da noite, exibem um perfil de cauda longa

inclinada para o piscar com sacada e o piscar isolado; 7) ao longo das 24 horas, ambos os tipos de piscares apresentaram índices de Burstiness (B) e de Memória positivos com uma dinâmica intermitente com origem principalmente no efeito no acoplamento de curto prazo entre os IEEs; 8) a característica intermitente parece ser mais acentuada à noite; 9) ao comparar os índices de B e M nos períodos pré e pós PS, vimos que a dinâmica temporal do piscar com sacada foi preservada após a PS.

## 4.1 Relação entre o piscar com sacadas de cabeça e o piscar isolado

Na coruja-buraqueira, o piscar ocorre mais frequentemente associado às sacadas de cabeça. O primeiro artigo a descrever esta associação em aves foi o estudo de Yorkinski e colaboradores (2016) (Yorzinski, 2016). De acordo com os resultados apresentados, em pavões, o piscar ocorre sempre ligado às sacadas de cabeça, apresentando taxas reduzidas nos períodos em que o animal encontra-se em alerta e quando a frequência de sacadas isoladas é mais elevada. Essa associação também foi mostrada em um estudo em galinhas, de 2017, no qual a taxa de piscar foi avaliada nos períodos que o animal estava se alimentando (Beauchamp, 2017). Durante essa atividade, o piscar ocorreu concomitante aos movimentos de descer e elevar a cabeça, e sua frequência foi maior do que nos períodos de monitoramento do espaço (vigília). Interessante que, assim como reportado por Yorkinski e colegas (2016) e por Beauchamp (2017), o piscar com sacada na buraqueira parece ser inibido nos períodos em que o animal encontra-se mais ativo. Da mesma forma, o estudo de Dias (2013), na coruja-buraqueira, também verificou uma redução da frequência de piscar, em conjunto com um aumento das sacadas isoladas, ao comparar a condição de tarefa com o repouso.

Geralmente, o piscar ocorre associado às sacadas de maior latência e não parece ser evocado por um mecanismo reflexo da estimulação da córnea (Evinger et al., 1994). Durante este movimento sinérgico, o piscar costuma ter menor duração que a sacada, com início e fim anteriores ao redirecionamento do olhar (Rottach et al., 1998). Uma das hipóteses para explicar a associação temporal desses comportamentos é a de que ambos compartilham um mesmo mecanismo de supressão vi-

sual (Volkman, 1986; Volkman et al., 1980). Assim, durante o movimento de sacada com piscar há uma interrupção do estímulo visual, que passa despercebida, dado a uma redução da sensibilidade visual (Bristow et al., 2005; Wurtz, 2008). Sendo assim, a co-ocorrência desses dois comportamentos seria uma forma de minimizar perdas de informação visual. Uma outra teoria é de que há uma interação entre os mecanismos neurais que geram ambos os movimentos e a coordenação entre eles não depende somente da informação visual, mas ocorre como resultado de um sinal extra-retinal (Deubel et al., 2004; Evinger et al., 1994; Williamson et al., 2005). Por fim, durante uma sacada a superfície ocular fica exposta a pequenas partículas além tornar-se mais ressecada. Dessa forma, o piscar ocorrendo em conjunto com a sacada seria uma maneira proteger e lubrificar a superfície ocular durante o redirecionamento do olhar (Nakamori et al., 1997; Yorzinski, 2016).

Apesar de não termos analisado a duração do piscar, nosso estudo nos permite fazer inferências muito ricas sobre a temporização desses eventos e algumas correlações interessantes podem ser feitas com as hipóteses acima. A coruja-buraqueira é um animal catemeral e, dessa forma, alterna constantemente entre o estado de sono e vigília. Durante a vigília, a ocorrência de sacadas isoladas é elevada e dos piscares associados à sacada é menor, enquanto os piscares isolados são ausentes. A medida em que o animal entra em estado de repouso, essa tendência se altera, com um aumento dos piscares associados à sacada e redução das sacadas isoladas. A frequência do piscar isolado, por sua vez, aumenta a medida em que a pressão de sono aumenta e tem maior probabilidade de ocorrer antes de o animal fechar os olhos (Garcia, 2022).

A partir disso, podemos inferir que o piscar, na coruja-buraqueira: (1) Está associado a demanda atencional, e por isso é inibido durante o período de vigília; (2) Os mecanismos que suprimem a geração da sacada e do piscar são ligados e o acoplamento entre eles é flexível, depende da demanda atencional (e estado de vigília); (3) Existe um circuito responsável pela geração do piscar e coordenação entre esses eventos é resultado de um sinal extra-retinal, não havendo a necessidade de um estímulo visual para que ocorra (Williamson et al., 2005). A distribuição não-homogênea desses eventos, ao longo das 24h, em conjunto com a alta correlação (de curto-prazo) entre os eventos é um indicativo da existência de uma origem central do piscar.

#### 4.1.1 Mecanismos neurais que controlam o piscar e a motricidade ocular

Em mamíferos, o piscar é acompanhado por movimentos oculares, provavelmente devido a co-contração de músculos extraoculares (Collewijn et al., 1985; Evinger et al., 1984). Pouco antes do piscar, a atividade tônica do músculo levantador da pálpebra (LP) cessa e o músculo orbicularis oculi (OO) é ativado, de maneira recíproca (Björk & Kugelberg, 1953; Evinger et al., 1991). Existem evidências de que os mecanismos neurais que controlam o piscar são interligados aos mecanismos responsáveis pela motricidade ocular. Evinger (1994) mostrou que, em humanos, a contração do músculo OO, responsável pelo fechamento palpebral, ocorre em conjunto com movimentos rápidos de reorientação do olhar ou cabeça (Evinger et al., 1994). Entretanto, esta ligação entre o piscar e a sacada de cabeça não é obrigatória e parece depender da demanda atencional e estado de vigília. Durante uma tarefa, por exemplo, o indivíduo não pisca ao direcionar o olhar para o alvo, mas apenas ao redirecionar seu olhar ao ponto inicial (Stern et al., 1984).

O colículo superior (CS) parece ser uma região importante para a interação entre os sistemas de sacada e piscar. Projeções excitatórias do CS acionam os neurônios geradores de sacada localizados no tronco cerebral pontomedular (Gnadt et al., 1997; Goossens & Opstal, 2000b). A atividade desses neurônios é inibida pelos neurônios omnipause pontinos (NOPs), que apresentam taxas de disparo tônico durante a fixação. Todavia, uma vez que uma sacada é gerada, os NOPs cessam sua atividade e ocorre a desinibição dos neurônios geradores de sacada (Katnani et al., 2012). Ademais, estudos sobre o piscar reflexo associavam a ativação dos motoneurônios OO com a pausa da inibição dos NOPs durante o movimento de piscar e sacada (Gandhi & Bonadonna, 2005; Rottach et al., 1998). Porém, o mesmo não ocorre durante o piscar espontâneo e a inibição dos NOPs parece estar dissociada do piscar (Schultz et al., 2010). Mais estudos são necessários para compreender a interação entre esses dois sistemas.

O entendimento de que o colículo superior interliga os dois circuitos veio de estudos sobre o piscar reflexo. Gnadt e colaboradores (1997), mostram que a microestimulação desta região produz a supressão do piscar exceto em sua porção rostral, próxima a zona de fixação (Gnadt et al., 1997). Além disso, resultados apresentados pelos dois estudos publicados por Goossens e colegas, em 2000, evidenciam

que o piscar, quando associado a uma sacada, não só modifica as propriedades espaço-temporal desta última, como também causa uma modificação do padrão de descarga dos neurônios no CS. Ainda, o piscar produz uma inibição transiente da atividade desta célula, que volta a disparar numa taxa mais baixa e que se correlaciona bem com o aumento da duração do movimento de sacada (Goossens & Opstal, 2000b, 2000a). Sendo assim, a probabilidade de produzir um piscar está relacionada a movimentos de maior amplitude gerados por taxas mais baixas de descarga neuronal na região caudal do CS (Gandhi & Bonadonna, 2005; Katnani et al., 2012).

Ademais, estudos clínicos têm apontado para alterações no acoplamento entre o piscar e a sacada (Hain et al., 1986). Em sua maioria, essas alterações também estão associadas a um aumento ou redução do piscar, em decorrência de lesões nos núcleos da base (JR., 1978; Karson, 1983; Karson, Lewitt, et al., 1982). Sabe-se que a dopamina modula o piscar. Estudos relacionados ao reflexo do piscar sugerem que alterações na atividade dos neurônios da substância negra *pars reticulata* (SNpr) que, em condições normais, inibem o CS poderiam alterar o controle do piscar via fibras eferentes tectais (Basso et al., 1996; Basso & Evinger, 1996; Gnadt et al., 1997). De acordo com Kaminer (2011), as modificações que ocorrem, de forma análoga, no piscar espontâneo pela manipulação da dopamina, poderia ser um indício de que o complexo trigeminal também participa de sua geração (Kaminer et al., 2011). Todavia, o conhecimento a cerca do circuito que gera o piscar espontâneo ainda é muito incipiente, sendo necessários mais estudos sobre o assunto.

#### 4.1.3 Efeito da privação de sono sobre piscar com sacada e o piscar isolado

A análise do efeito da privação de sono no comportamento do piscar da coruja-buraqueira é um indício de que o acoplamento entre os sistemas de piscar e sacada é flexível. Nossos resultados apontam para uma redução da taxa de piscar associado a sacada e aumento do piscar isolado após as 24 horas de privação de sono. Nossa hipótese é de que o acoplamento entre esses dois sistemas é implementado por um mecanismo de inibição recíproca que se adapta em função do estado de vigília/ pressão de sono. Assim, durante o estado de atenção e vigília, as sacadas prevalecem e o piscar é inibido, conforme os mecanismos explicados acima. A

medida em que o animal entra no estado de repouso, a inibição sobre o piscar diminui e mais movimentos de piscar associados a sacadas são produzidos (estas, por sua vez, são de maior amplitude dado a baixa descarga neuronal na região caudal do CS) (Katnani et al., 2012). Por fim, a medida em que a pressão de sono aumenta, a inibição sobre o sistema do piscar cessa enquanto sobre o circuito da sacada aumenta ainda mais e, conseqüentemente, há um aumento do piscar isolado.

Em camundongos, o piscar também foi correlacionado a alterações nos níveis de vigília. Neste estudo, o piscar durante o período acordado foi associado às oscilações delta, já aqueles que ocorreram enquanto o animal dormia, não tiveram esta associação (Turner et al., 2022). Correlatos em humanos também têm mostrado uma associação entre o piscar, as oscilações delta e a ativação transiente de áreas da RMP durante períodos em que o indivíduo está em repouso, ou durante uma mudança de estímulo (Bonfiglio et al., 2009, 2011; Nakano et al., 2013). A partir desses estudos, o piscar vem sendo associado a um mecanismo de reset cerebral e manutenção da vigília.

Nas primeiras 4 horas após a PS vemos que há um aumento do piscar isolado, quando comparado ao mesmo período anterior a privação. Ao comparar nossos resultados com os de Garcia (2022), torna-se clara a associação entre o piscar isolado e a pressão de sono na coruja-buraqueira. O protocolo de privação de sono iniciou-se em dois períodos diferentes, ao final da tarde e no crepúsculo vespertino, este último caracterizado por um pico de atividade circadiana do animal. Todavia, não houve variabilidade estatística quanto ao aumento apresentado pelos cinco animais, mesmo que, durante este período, foi observada uma diferença quanto ao tempo ativo e inativo desses animais. Assim, o aumento do piscar isolado pode ser atribuído, não só há um aumento do débito de sono, mas também a um processo de recuperação homeostático, uma vez que este comportamento está associado a manutenção da vigília.

## 4.2 Relação entre o piscar e os fatores exógenos

Nesse estudo, foi possível investigar a influencia da variação de fatores exógenos, como a luz, temperatura (T°C) e umidade relativa do ar (UR), no padrão de distribuição do piscar da coruja-buraqueira. Nossos resultados apontam para uma

forte correlação entre os eventos de piscar com sacada e piscar isolado com as variações de T°C ( $R = 0,85$ ,  $p < 0,0001$ ) e UR ( $R = 0,85$ ,  $p < 0,0001$ ). Assim, um aumento do piscar é observado em conjunto com o aumento da T°C e redução da UR e a redução deste comportamento foi concomitante a uma tendência oposta de T°C e UR. A partir disso, podemos dizer que a temperatura e a umidade são pistas temporais que modificam diretamente a dinâmica temporal desse comportamento, aumentando o piscar reflexo para manter a córnea lubrificada. Estudos em humanos e um estudo em roedor, também têm mostrado essa mesma tendência (Borges et al., 2010; Kaminer et al., 2011; Kennedy, 1927; Naase et al., 2005). Interessante observar desses estudos é que, apesar da superfície ocular modular o número de piscar, o intervalo entre eles não parece ser alterado por ela. Kaminer e colaboradores (2011) propõem que o ressecamento ocular modifica o gerador de piscar espontâneo, uma vez que aumenta a taxa de piscar e, por sua vez, sua regularidade, sem alterar suas características temporais.

Por outro lado, um outro fator que também modula a dinâmica temporal do piscar é o estado central da coruja-buraqueira. No estudo de Coulomb (1971), a coruja-buraqueira foi classificada como um animal diurno-catemeral em condições naturais (Coulombe, 1971). Todavia, em condições controladas de temperatura e umidade, viu-se que a buraqueira manteve seu padrão diurno-catemeral quando exposta a temperatura ambiente amena (35°C), mas alternado para um padrão noturno quando exposta à temperaturas acima da temoneutralidade do animal (41°C) (Coulombe, 1971). Outros estudos em animais catemerais têm mostrado que a temperatura e a umidade são fatores de mascaramento da ritimicidade circadiana, principalmente nos ambientes em que as variações desses fatores são extremas (Curtis & Rasmussen, 2002; Fernandez-Duque, 2003). Da mesma forma, o estudo de Garcia (2022) também mostrou essa tendência para os animais, todavia na situação de cativeiro, em que foram expostos as variações circadianas de temperatura e umidade (Garcia, 2022). Assim, poderíamos supor que a temperatura e a umidade também modulam, de maneira indireta, o piscar endógeno nesta espécie, uma vez que a variação da frequência do piscar ocorre como consequência das variações entre os estados que a coruja encontra-se mais ativa ou menos ativa.

Por fim, alguns estudos têm demonstrado que, dependendo do estado atencional do indivíduo, ocorre uma inibição do mecanismo reflexo do piscar. Um aumento

do piscar foi observado por Acosta e colaboradores (1998) ao aplicar um jato de ar a face do indivíduo em repouso, mas não houve alteração na frequência dos indivíduos em tarefa (taxa reduzida em relação ao nível basal) (Acosta et al., 1999). Segundo os autores, o efeito da alteração da integridade corneal, não depende apenas de uma modificação extrema na condição, mas sua associação ao estado central do indivíduo (Acosta et al., 1999). O mesmo parece fazer sentido para a espécie de irauíra-mexicana (*Quiscalus mexicanus*), que tem sua frequência de piscar aumentada em condições de ventania - em conjunto com a redução dos comportamentos ativos - e reduzida durante o período de vôo (em que o animal encontra-se em alerta) (Yorzinski, 2020a; Yorzinski & Argubright, 2019).

Dessa forma, nossos resultados parecem indicar para um mecanismo de modulação direto e indireto do piscar a partir das variações de temperatura e umidade. Todavia, para investigar melhor essa hipótese, seria necessário estudar este comportamento no ambiente laboratorial, onde essas variáveis podem ser controladas.

#### 4.2.1 Piscar e fotoperíodo de maior atividade, existe uma associação?

A taxa de piscar total, com e sem sacada, encontrada para a coruja-buraqueira ao longo das 24 horas foi de 2,01 eventos/min ( $\pm 0,53$ ). Essa taxa é similar a relatada no estudo de Kirsten e Kirsten (1983): 2,9 piscares/min ( $\pm 1,2$ ) (Kirsten & Kirsten, 1983). Assim como reportado em outras análises, Kirsten e Kirsten atribuem a taxa de piscar do animal a seu período de atividade (Kirsten & Kirsten, 1983; Stevens & Livermore, 1978; Tada et al., 2013). Sendo assim, como esta coruja apresenta uma taxa relativamente baixa, os autores a classificam como noturna. Todavia, conforme mostrado da tese de doutorado de Garcia (2022), os comportamentos ativos, e também os relacionados ao sono, deste animal encontram-se distribuídos ao longo de todas as horas do dia, sendo assim, ela não pode ser classificada como um animal noturno. Da mesma forma, em nosso estudo vimos que o piscar apresentam uma distribuição não-uniforme ao longo das 24 horas e que há uma diferença de taxa entre o dia e a noite, com médias de 2,43 ( $\pm 0,56$ ) e 1,65 eventos/min ( $\pm 0,52$ ), respectivamente. A diferença entre as taxas, para ambos os tipos de piscar, nos faz pensar que, na verdade, a variação da taxa entre as espécies noturnas e diurnas esteja ligada à incidência de luz e não ao período de atividade do animal.

No estudo de Stevens e Livermore (1978), a taxa de piscar é relacionada à incidência de luz, durante o período em que o animal está acordado, e inversamente relacionada a duração do sono com Movimento Rápido dos Olhos (do inglês, *Rapid Eyes Movement*, REM) (Stevens & Livermore, 1978). Segundo os autores, o piscar e o período do sono REM evocam potenciais de forma rítmica e pulsada em núcleos da via visual, contribuindo para a regulação fótica dos ritmos biológicos. Na buraqueira, a duração do sono com os dois olhos fechados (indicador de que a coruja está entrando no sono REM; ver Garcia, 2022), foi maior à noite, período em que o animal também apresentou uma taxa reduzida de piscar. Esta mesma correlação foi apresentada em um estudo sobre gaivotas (Amlaner & McFarland, 1981). Se a hipótese de Stevens e Livermore (1978) estiver correta, então tanto a luz como a duração do sono REM influenciam a taxa de piscar. Uma alteração no ciclo de claro/ escuro ou no período de sono do animal, poderia, dessa forma, alterar a taxa de piscar.

### 4.3 Aumento da taxa de piscar está ligado à pressão de sono

O primeiro estudo a propor uma relação entre o piscar e a profundidade do sono em aves foi publicado em 1981, por Amlaner e McFarland (Amlaner & McFarland, 1981). Os autores mostraram que existe uma relação entre a taxa de piscar, olhos fechados e as posturas relacionadas ao sono, nas gaivotas. Tais posturas estão correlacionadas a: (1) um aumento do limiar para acordar; (2) taxa elevada de piscar; e (3) aumento da duração dos episódios de sono com os olhos fechados. Na buraqueira, a taxa de piscar também parece estar associada a profundidade do sono. A medida em que a coruja alterna entre os estados de vigília e sono, há uma tendência de redução da taxa de sacadas isoladas e aumento do piscar (Garcia, 2022). Esse último ocorre associado a sacada, durante o repouso e, a medida em que há um aumento da propensão para fechar os olhos, a taxa de piscar isolado se eleva. O estudo de Berger e Walker (1972), correlaciona um aumento do limiar para acordar ao sono REM, na coruja-buraqueira. Este padrão de sono parece estar relacionado ao período em que o animal dorme com os dois olhos fechados (Berger & Walker, 1972). Caso esta hipótese esteja correta, então pode ser que um aumento

da taxa de piscar, na buraqueira, esteja associada a um limiar mais alto para acordar.

Em humanos, Barbato e colaboradores (2000), encontraram um aumento expressivo da taxa de piscar no período da noite, provavelmente associado a um aumento da pressão de sono nesta espécie (Barbato et al., 2000). Nosso estudo mostrou que a coruja-buraqueira apresenta um pico de distribuição do piscar no período da tarde. Contudo, não se pode afirmar que tenha sido causado por um efeito da pressão de sono, uma vez que este animal dorme várias vezes ao longo do dia, enquanto em humanos, esta pressão traduz um longo período sem dormir. Por outro lado, de acordo com o modelo proposto por Tobler e Borbély (1992), o tempo e a estrutura do sono são determinados não só pelo modelo homeostático, mas pela interação deste com o modelo circadiano (Tobler et al., 1992). Assim, nós propomos que o pico de distribuição do piscar, na buraqueira, possa ser explicado, não por um aumento da pressão de sono, mas em decorrência de uma modulação ultradiana.

#### 4.3.1 Efeito homeostático da privação de sono

Após 24 horas de privação de sono, houve um aumento do piscar isolado na coruja-buraqueira. Interessante observar que não houve diferença inter-individual com relação a este aumento, mas há uma variabilidade de efeito associada a interação entre animais e as horas de cada protocolo de tratamento (pré ou pós).

No trabalho de Garcia (2022), a pressão de sono foi obtida a partir das métricas proposta por Wiggin e colaboradores (2019): (1)  $P_{(Wake)}$  é a probabilidade de transição do estado de repouso para o estado de vigília; e (2)  $P_{(Doze)}$  a probabilidade de transição do estado de vigília para o estado de repouso/sono {Wiggin.2019}. O aumento da pressão de sono foi bem caracterizado para as três corujas cujo protocolo de privação teve início ao final da tarde (AC1408, AC1409, AC1804), mas não para as outras duas, cujo início foi no período do crepúsculo vespertino (AC1601 e AC1301), horário em que apresentam um pico de atividade.

Segundo o modelo proposto por Tobler e Borbély (1992), o sono é regulado pela interação de dois processos: o processo homeostático (S), que aumenta em função do tempo acordado (pressão de sono); e o processo circadiano (C), que é independente das ocorrências de sono e vigília anteriores (Tobler et al., 1992). O

processo S está associado a intensidade do sono que, por sua vez, vem sendo relacionada às oscilações delta no EEG, durante o sono NREM (Eban-Rothschild et al., 2018). Já o processo C parece ser controlado por osciladores circadianos.

Ao comparar nossos resultados com os de Garcia (2022), podemos dizer que, apesar de não ter havido alteração com relação as métricas de probabilidade acima ( $P_{(Wake)}$  e  $P_{(Doze)}$ ) para as corujas AC1601 e AC1301, a pressão homeostática de sono, para esses animais pode ser evidenciada pelo aumento da taxa de piscar isolado. Isso porque, mesmo essas corujas não terem apresentado uma recuperação clara do sono, devido a um pico de atividade (determinado pelo processo circadiano), essa recuperação parece ter sido feita com o aumento da taxa de piscar isolado. Assim, como o piscar representa um mecanismo de reset do cérebro que, por sua vez, é associado as oscilações do tipo delta, o débito de sono pode ser diminuído para aumentando-se a taxa de piscar.

Nesse estudo, nós avaliamos somente a taxa e a organização temporal da ocorrência dos piscares. Estudos em humanos mostram que outros parâmetros, como a duração do piscar, podem ser importantes biomarcadores da pressão de sono (Cori et al., 2019). O sistema de oculografia de refletância infravermelha, por exemplo, vem sendo usado para monitorar os olhos e o movimento das pálpebras de motoristas em estradas e detectar fadiga (Philip et al., 2005). Uma redução no tempo de reação do indivíduo está correlacionada a privação de sono e tempo de movimento das pálpebras durante o piscar. Um outro estudo mostrou que, apesar de a duração do piscar aumentar com a pressão de sono, a taxa de piscar no período associado a condição de alerta não apresenta diferença estatística da condição associada à fadiga (Caffier et al., 2003). Esses estudos, e conforme pontuado por Cori e colegas (2019), apontam para a necessidade de avaliar outros parâmetros, além da taxa, para a compreensão da relação entre o piscar e a pressão de sono (Cori et al., 2019).

## 4.4 Organização temporal do piscar

O trabalho de Kennedy e Ponder (1927), foi o primeiro a propor a análise dos intervalos entre eventos para se estudar a dinâmica do piscar (Kennedy, 1927). Segundo eles, existem quatro tipos de distribuição: (1) Irregular, apresentando tanto

intervalos curtos como de longa duração; (2) em formato de J, na qual os intervalos curtos prevalecem, enquanto os de longa duração aparecem de forma decrescente; (3) Bimodal; e (4) Simétrica. Nosso estudo mostrou que, na coruja-buraqueira, o padrão de distribuição ao longo das 24 horas segue um perfil em cauda-longa, ou em formato de J, conforme a nomenclatura sugerida por Kennedy e Ponder. Este mesmo perfil foi observado em estudos em humanos (Borges et al., 2010; Kaminer et al., 2011; Kennedy, 1927; Naase et al., 2005) e parece caracterizar o piscar em ratos (Kaminer et al., 2011). O estudo de Kaminer e colaboradores (2011) também revelou um componente rítmico com um período de cerca de 8 min e 12 min na taxa do piscar em seres humanos e em ratos, respectivamente (Kaminer et al., 2011). Este resultado foi interpretado como evidência da existência de um gerador endógeno, ou seja, um marca-passo neural, responsável pelas piscadas espontâneas. No entanto, é importante destacar que essa interpretação se baseia em uma análise que considera uma escala temporal de longo prazo, a qual não foi considerada em nosso estudo. A nossa análise temporal é de curto prazo, ou mais precisamente, contempla a menor escala temporal na qual possíveis correlações temporais podem surgir i.e. aquelas regidas pelos intervalos entre piscares consecutivos. Assim, sugerimos a realização de análises complementares das séries temporais obtidas neste estudo no futuro. Especificamente, recomendamos a consideração de outras escalas temporais para aprofundar a compreensão das hierarquias dinâmicas possivelmente presentes nessas séries temporais.

Para caracterizar a origem do padrão do piscar da buraqueira, nós utilizamos um método de discriminação de primeira ordem, ou seja, de menor escala temporal, proposto por Goh e Barabási (2008). A partir dessa análise, vimos que durante as 24 horas, foram encontrados valores positivos tanto para o índice de B como M, sendo que o valor de M mais próximo de 1 indica uma forte correlação entre eventos. Esta alta correlação foi mantida ao analisarmos a dinâmica de distribuição do piscar com sacada ao longo do dia e da noite, todavia, a natureza intermitente parece ser aumentada no período da noite ( $B \approx 1$ ). Essa diferença na estrutura temporal pode ser dependente da intensidade de luz. Estudos relacionados à taxa de piscar indicam que há uma diferença, considerando essa métrica, entre os dois períodos (Kirsten & Kirsten, 1983; Stevens & Livermore, 1978; Tada et al., 2013).

Uma outra questão que também pode ser respondida a partir desta análise é sobre a preservação da estrutura temporal desse comportamento. O modelo de Goh e Barabási, pressupõe que a dinâmica intermitente de comportamentos humanos tem origem a partir de um processo de tomada de decisão, com as tarefas sendo realizadas em ordem de prioridade e um certo componente randômico associado (Barabási, 2005). Comportamentos espontâneos de animais não-humanos também apresentam uma estrutura mais complexa e sua organização se baseia tanto no estado interno e nas dicas ambientais, como num componente de viés inato ou randômico (Atkinson et al., 2002; Boyer et al., 2006; Markowitz et al., 2023; Martin, 2004). Não se sabe de que forma esses comportamentos são organizados sequencialmente, o que se sabe é que a dopamina é um neuromodulador importante em sua estruturação momento-a-momento (Markowitz et al., 2023).

O comportamento do piscar está associado a circuitos mesencefálicos bastante conservados em aves e mamíferos e que estão ligados a demanda atencional. Estudos anteriores em aves, já relacionaram a atividade nessas regiões com aumento ou diminuição do piscar, associados a condição a qual a ave está sendo exposta (Cross et al., 2013; Marzluff et al., 2012). Contudo, não há nenhum relato nesse grupo sobre a presença (ou não) de alterações na dinâmica do piscar. Em nosso estudo, nós analisamos, utilizando as métricas de B e M, se a dinâmica do piscar com sacada foi alterada após 24 horas de privação de sono. Nossos resultados mostram que, apesar da taxa desse comportamento ter sido reduzida, sua estrutura temporal foi conservada após a privação de sono. Em *Drosophila*, viu-se que a estrutura temporal de um comportamento é alterada quando a mutação em questão produz um aumento da sinalização dopaminérgica, neste caso, a atividade torna-se mais randomizada (Sorribes et al., 2011). Por outro lado, quando essa mutação causa uma redução da sinalização dopaminérgica, a dinâmica temporal do comportamento é conservada. Como a ordenação temporal do piscar da coruja foi preservado, talvez poderíamos supor que a privação de sono tenha causado uma redução da sinalização dopaminérgica. Assim, conforme proposto por Kaminer (2011), há uma redução da atividade inibitória da SNpr sobre o CS e, por sua vez, um aumento do piscar isolado e redução do piscar com sacada (Kaminer et al., 2011).

## 4.5 Perspectivas futuras

*A coruja-buraqueira é um bom modelo aviário para se estudar as bases neurais e farmacológicas do piscar?*

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar se a coruja-buraqueira é um bom modelo aviário para se estudar o piscar. Para isso, nós avaliamos a taxa e a dinâmica deste comportamento a partir de uma longa série temporal. Esta espécie apresenta um padrão de atividade pouco investigado em aves e até então apenas associado a mamíferos, a catemeralidade. Sendo assim, ela apresenta um ciclo de sono e vigília fragmentado ao longo das 24 horas, o que permite examinar como o estado central e os fatores ambientais contribuem para a dinâmica de um comportamento. A partir disso, nós vimos que o piscar nesta espécie está distribuído ao longo de todas as horas e ocorre com mais frequência durante o período do dia. Além disso, nosso estudo mostrou que, tanto a taxa como a dinâmica, parecem variar em função da luz. Estudos anteriores haviam proposto que a taxa de piscar está relacionada ao período de atividade do animal.

Nesta espécie, o piscar parece estar fortemente correlacionado a pressão de sono. Na análise de 24 horas, nós vimos que o piscar ocorre mais frequentemente associado às sacadas de cabeça, todavia estão ligados ao período em que o animal encontra-se em repouso e, a medida em que se prepara para dormir, o piscar isolado torna-se mais frequente. Esta relação fica ainda mais evidente nas 4 horas após a privação de sono, em que há um grande aumento do piscar isolado em conjunto com uma maior duração do sono com os dois olhos fechados. Todavia, para compreender melhor a relação entre o piscar e a pressão de sono, seria interessante que avaliássemos outros parâmetros, como a duração do piscar e a velocidade de fechamento e reabertura das pálpebras.

A partir do exposto acima, podemos afirmar que a buraqueira é um bom modelo para o estudo das bases neurais do piscar. Todavia, com relação às bases farmacológicas, é necessário que sejam feitas algumas ressalvas. O comportamento do piscar seria avaliado ao longo de uma hora após a aplicação do agonista ou antagonista dopaminérgico. Como a taxa de piscar isolada é bastante baixa ao longo do dia (vide figuras 3.1 e 3.2), dependendo do horário selecionado para fazer o experimento, o animal poderia não expressar este comportamento naquele horário. Conside-

rando que, os sistemas que geram o piscar e a sacada são acoplados, seria interessante investigar de que forma um aumento ou diminuição da atividade dopaminérgica agiria sobre estes sistemas. Se a privação de sono reduz a sinalização dopaminérgica, conforme propusemos, então ela age de forma análoga a um agonista dopaminérgico.

## 5. BIBLIOGRAFIA

Acosta, M. C., Gallar, J., & Belmonte, C. (1999). The Influence of Eye Solutions on Blinking and Ocular Comfort at Rest and During Work at Video Display Terminals. *Experimental Eye Research*, 68(6), 663–669. <https://doi.org/10.1006/exer.1998.0656>

Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19(6), 716–723. <https://doi.org/10.1109/tac.1974.1100705>

Al-Abdulmunem, M. (1999). Relation between tear breakup time and spontaneous blink rate. *International Contact Lens Clinic*, 26(5), 117–120. [https://doi.org/10.1016/s0892-8967\(00\)00033-x](https://doi.org/10.1016/s0892-8967(00)00033-x)

Amlaner, C. J., & McFarland, D. J. (1981). Sleep in the herring gull (*Larus argentatus*). *Animal Behaviour*, 29(2), 551–556. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(81\)80118-2](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(81)80118-2)

Atkinson, R. P. D., Rhodes, C. J., Macdonald, D. W., & Anderson, R. M. (2002). Scale-free dynamics in the movement patterns of jackals. *Oikos*, 98(1), 134–140. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980114.x>

Barabási, A.-L. (2005). The origin of bursts and heavy tails in human dynamics. *Nature*, 435(7039), 207–211. <https://doi.org/10.1038/nature03459>

Barak, O., & Kronfeld-Schor, N. (2013). Activity Rhythms and Masking Response in the Diurnal Fat Sand Rat Under Laboratory Conditions. *Chronobiology International*, 30(9), 1123–1134. <https://doi.org/10.3109/07420528.2013.805337>

Barbato, G., Ficca, G., Beatrice, M., Casiello, M., Muscettola, G., & Rinaldi, F. (1995). Effects of sleep deprivation on spontaneous eye blink rate and alpha EEG power. *Biological Psychiatry*, 38(5), 340–341. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(95\)00098-2](https://doi.org/10.1016/0006-3223(95)00098-2)

Barbato, G., Ficca, G., Muscettola, G., Fichelle, M., Beatrice, M., & Rinaldi, F. (2000). Diurnal variation in spontaneous eye-blink rate. *Psychiatry Research*, 93(2), 145–151. [https://doi.org/10.1016/s0165-1781\(00\)00108-6](https://doi.org/10.1016/s0165-1781(00)00108-6)

Barbato, G., Monica, C. della, Costanzo, A., & Padova, V. D. (2012). Dopamine activation in Neuroticism as measured by spontaneous eye blink rate. *Physiology & Behavior*, 105(2), 332–336. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.08.004>

Barbato, G., Padova, V. D., Paolillo, A. R., Arpaia, L., Russo, E., & Ficca, G. (2007). Increased spontaneous eye blink rate following prolonged wakefulness. *Physiology & Behavior*, 90(1), 151–154. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.023>

Basso, M. A., & Evinger, C. (1996). An Explanation for Reflex Blink Hyperexcitability in Parkinson's Disease. II. Nucleus Raphe Magnus. *The Journal of Neuroscience*, 16(22), 7318–7330. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-22-07318.1996>

- Basso, M. A., Powers, A. S., & Evinger, C. (1996). An Explanation for Reflex Blink Hyperexcitability in Parkinson's Disease. I. Superior Colliculus. *The Journal of Neuroscience*, *16*(22), 7308–7317. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-22-07308.1996>
- Beauchamp, G. (2017). Half-Blind to the Risk of Predation. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *5*, 131. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00131>
- Bell, J., & Satchell, G. (1996). An undescribed unilateral ocular reflex in the dogfish *Squalus acanthias* L. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, *41*(3), 221–234. <https://doi.org/10.1038/icb.1963.22>
- Bentivoglio, A. R., Bressman, S. B., Cassetta, E., Carretta, D., Tonali, P., & Albanese, A. (1997). Analysis of blink rate patterns in normal subjects. *Movement Disorders*, *12*(6), 1028–1034. <https://doi.org/10.1002/mds.870120629>
- Berger, R. J., & Walker, J. M. (1972). Sleep in the burrowing owl (*Speotyto cunicularia hypugaea*). *Behavioral Biology*, *7*(2), 183–194. [https://doi.org/10.1016/s0091-6773\(72\)80198-6](https://doi.org/10.1016/s0091-6773(72)80198-6)
- Björk, A., & Kugelberg, E. (1953). The electrical activity of the muscles of the eye and eyelids in various positions and during movement. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *5*(4), 595–602. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(53\)90037-6](https://doi.org/10.1016/0013-4694(53)90037-6)
- Blount, W. P. (1927). Studies Of The Movements Of The Eyelids Of Animals: Blinking. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, *18*(2), 111–125. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1927.sp000426>
- Bonfiglio, L., Olcese, U., Rossi, B., Frisoli, A., Arrighi, P., Greco, G., Carozzo, S., Andre, P., Bergamasco, M., & Carboncini, M. C. (2013). Cortical source of blink-related delta oscillations and their correlation with levels of consciousness. *Human Brain Mapping*, *34*(9), 2178–2189. <https://doi.org/10.1002/hbm.22056>
- Bonfiglio, L., Sello, S., Andre, P., Carboncini, M. C., Arrighi, P., & Rossi, B. (2009). Blink-related delta oscillations in the resting-state EEG: A wavelet analysis. *Neuroscience Letters*, *449*(1), 57–60. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.10.039>
- Bonfiglio, L., Sello, S., Carboncini, M. C., Arrighi, P., Andre, P., & Rossi, B. (2011). Reciprocal dynamics of EEG alpha and delta oscillations during spontaneous blinking at rest: A survey on a default mode-based visuo-spatial awareness. *International Journal of Psychophysiology*, *80*(1), 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2011.01.002>
- Borges, F. P., Garcia, D. M., & Cruz, A. A. V. e. (2010). Distribution of spontaneous inter-blink interval in repeated measurements with and without topical ocular anesthesia. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, *73*(4), 329–332. <https://doi.org/10.1590/s0004-27492010000400005>
- Boyer, D., Ramos-Fernndez, G., Miramontes, O., Mateos, J. L., Cocho, G., Larralde, H., Ramos, H., & Rojas, F. (2006). Scale-free foraging by primates emerges from

their interaction with a complex environment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 1743–1750. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3462>

Bristow, D., Haynes, J.-D., Sylvester, R., Frith, C. D., & Rees, G. (2005). Blinking Suppresses the Neural Response to Unchanging Retinal Stimulation. *Current Biology*, 15(14), 1296–1300. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.06.025>

Caffier, P. P., Erdmann, U., & Ullsperger, P. (2003). Experimental evaluation of eye-blink parameters as a drowsiness measure. *European Journal of Applied Physiology*, 89(3–4), 319–325. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-0807-5>

Carrington, S. D., Bedford, P. G. C., Guillon, J. -P., & Woodward, E. G. (1987). Polarized light biomicroscopic observations on the pre-corneal tear film. 1. The normal tear film of the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 28(7), 605–622. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1987.tb01276.x>

Collewijn, H., Steen, J. van der, & Steinman, R. M. (1985). Human eye movements associated with blinks and prolonged eyelid closure. *Journal of Neurophysiology*, 54(1), 11–27. <https://doi.org/10.1152/jn.1985.54.1.11>

Cori, J. M., Anderson, C., Soleimanloo, S. S., Jackson, M. L., & Howard., M. E. (2019). Narrative review: Do spontaneous eye blink parameters provide a useful assessment of state drowsiness? *Sleep Medicine Reviews*, 45, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2019.03.004>

Coulombe, H. N. (1971). Behavior and Population Ecology of the Burrowing Owl, *Speotyto cunicularia*, in the Imperial Valley of California. *The Condor*, 73(2), 162–176. <https://doi.org/10.2307/1365837>

Cross, D. J., Marzluff, J. M., Palmquist, I., Minoshima, S., Shimizu, T., & Miyaoka, R. (2013). Distinct neural circuits underlie assessment of a diversity of natural dangers by American crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1765), 20131046. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1046>

Curtis, D. J., & Rasmussen, M. A. (2002). Cathemerality in lemurs. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 11(S1), 83–86. <https://doi.org/10.1002/evan.10064>

Desai, R. I., Neumeyer, J. L., Bergman, J., & Paronis, C. A. (2007). Pharmacological characterization of the effects of dopamine D1 agonists on eye blinking in rats. *Behavioural Pharmacology*, 18(8), 745–754. <https://doi.org/10.1097/fbp.0b013e3282f14e-e6>

Deubel, H., Bridgeman, B., & Schneider, W. X. (2004). Different effects of eyelid blinks and target blanking on saccadic suppression of displacement. *Perception & Psychophysics*, 66(5), 772–778. <https://doi.org/10.3758/bf03194971>

Drew, G. C. (1951). Variations in Reflex Blink-Rate during Visual-Motor Tasks. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 3(2), 73–88. <https://doi.org/10.1080/17470215108416776>

Dias, M. O. 2013. *Estudo do comportamento de rastreamento visual na coruja buraqueira*. Dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais.

Eban-Rothschild, A., Appelbaum, L., & Lecea, L. de. (2018). Neuronal Mechanisms for Sleep/Wake Regulation and Modulatory Drive. *Neuropsychopharmacology*, 43(5), 937–952. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.294>

Elsworth, J. D., Lawrence, M. S., Roth, R. H., Taylor, J. R., Mailman, R. B., Nichols, D. E., Lewis, M. H., & Redmond, D. E. (1991). D1 and D2 dopamine receptors independently regulate spontaneous blink rate in the vervet monkey. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 259(2), 595–600.

Eugen, K. von, Tabrik, S., Güntürkün, O., & Ströckens, F. (2020). A comparative analysis of the dopaminergic innervation of the executive caudal nidopallium in pigeon, chicken, zebra finch, and carrion crow. *Journal of Comparative Neurology*, 528(17), 2929–2955. <https://doi.org/10.1002/cne.24878>

Evinger, C., Manning, K. A., Pellegrini, J. J., Basso, M. A., Powers, A. S., & Sibony, P. A. (1994). Not looking while leaping: the linkage of blinking and saccadic gaze shifts. *Experimental Brain Research*, 100(2), 337–344. <https://doi.org/10.1007/bf00227203>

Evinger, C., Manning, K. A., & Sibony, P. A. (1991). Eyelid movements. Mechanisms and normal data. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 32(2), 387–400.

Evinger, C., Shaw, M. D., Peck, C. K., Manning, K. A., & Baker, R. (1984). Blinking and associated eye movements in humans, guinea pigs, and rabbits. *Journal of Neurophysiology*, 52(2), 323–339. <https://doi.org/10.1152/jn.1984.52.2.323>

Fernandez-Duque, E. (2003). Influences of moonlight, ambient temperature, and food availability on the diurnal and nocturnal activity of owl monkeys (*Aotus azarai*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 54(5), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s00265-003-0637-9>

Fitak, R. R., & Johnsen, S. (2017). Bringing the analysis of animal orientation data full circle: model-based approaches with maximum likelihood. *Journal of Experimental Biology*, 220(21), 3878–3882. <https://doi.org/10.1242/jeb.167056>

Gandhi, N. J. (2012). Interactions between gaze-evoked blinks and gaze shifts in monkeys. *Experimental Brain Research*, 216(3), 321–339. <https://doi.org/10.1007/s00221-011-2937-z>

Gandhi, N. J., & Bonadonna, D. K. (2005). Temporal Interactions of Air-Puff–Evoked Blinks and Saccadic Eye Movements: Insights Into Motor Preparation. *Journal of Neurophysiology*, 93(3), 1718–1729. <https://doi.org/10.1152/jn.00854.2004>

- Garcia, C. A. S., (2022). *A Comprehensive Study of Sleep-Wake Behaviors in the Burrowing Owl (Athene cunicularia)*. Dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Gawne, T. J., & Martin, J. M. (2000). Activity of Primate V1 Cortical Neurons During Blinks. *Journal of Neurophysiology*, 84(5), 2691–2694. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.5.2691>
- Gawne, T. J., & Martin, J. M. (2002). Responses of Primate Visual Cortical Neurons to Stimuli Presented by Flash, Saccade, Blink, and External Darkening. *Journal of Neurophysiology*, 88(5), 2178–2186. <https://doi.org/10.1152/jn.00151.200>
- Giannakakis, G., Pediaditis, M., Manousos, D., Kazantzaki, E., Chiarugi, F., Simos, P. G., Marias, K., & Tsiknakis, M. (2017). Stress and anxiety detection using facial cues from videos. *Biomedical Signal Processing and Control*, 31, 89–101. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2016.06.020>
- Gilestro, G. F. (2012). Video tracking and analysis of sleep in *Drosophila melanogaster*. *Nature Protocols*, 7(5), 995–1007. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.041>
- Gnadt, J. W., Lu, S.-M., Breznen, B., Basso, M. A., Henriquez, V. M., & Evinger, C. (1997). Influence of the superior colliculus on the primate blink reflex. *Experimental Brain Research*, 116(3), 389–398. <https://doi.org/10.1007/pl00005767>
- Goh, K.-I., & Barabási, A.-L. (2008). Burstiness and memory in complex systems. *EPL*, 81(4), 48002. <https://doi.org/10.1209/0295-5075/81/48002>
- Goossens, H. H. L. M., & Opstal, A. J. V. (2000a). Blink-Perturbed Saccades in Monkey. I. Behavioral Analysis. *Journal of Neurophysiology*, 83(6), 3411–3429. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.83.6.3411>
- Goossens, H. H. L. M., & Opstal, A. J. V. (2000b). Blink-Perturbed Saccades in Monkey. II. Superior Colliculus Activity. *Journal of Neurophysiology*, 83(6), 3430–3452. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.83.6.3430>
- Grillner, S., & Robertson, B. (2016). The Basal Ganglia Over 500 Million Years. *Current Biology*, 26(20), R1088–R1100. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.041>
- Hain, T. C., Zee, D. S., & Mordes, M. (1986). Blink-induced saccadic oscillations. *Annals of Neurology*, 19(3), 299–301. <https://doi.org/10.1002/ana.410190315>
- Hall, A. (1945). The origin and purposes of blinking. *British Journal of Ophthalmology*, 29(9), 445. <https://doi.org/10.1136/bjo.29.9.445>
- Hari, R., Salmelin, R., Tissari, S. O., Kajola, M., & Virsu, V. (1994). Visual stability during eyeblinks. *Nature*, 367(6459), 121–122. <https://doi.org/10.1038/367121b0>

- Helms, P. M., & Godwin, C. D. (1985). Abnormalities of blink rate in psychoses: A preliminary report. *Biological Psychiatry*, *20*(1), 103–106. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(85\)90143-x](https://doi.org/10.1016/0006-3223(85)90143-x)
- Holland, M. K., & Tarlow, G. (1972). Blinking and Mental Load. *Psychological Reports*, *31*(1), 119–127. <https://doi.org/10.2466/pr0.1972.31.1.119>
- Holland, M. K., & Tarlow, G. (1975). Blinking and Thinking. *Perceptual and Motor Skills*, *41*(2), 403–406. <https://doi.org/10.2466/pms.1975.41.2.403>
- Holly, F. J. (1973). Formation and rupture of the tear film. *Experimental Eye Research*, *15*(5), 515–525. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(73\)90064-x](https://doi.org/10.1016/0014-4835(73)90064-x)
- Hoppe, D., Helfmann, S., & Rothkopf, C. A. (2018). Humans quickly learn to blink strategically in response to environmental task demands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(9), 2246–2251. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714220115>
- Hupé, J.-M., Bordier, C., & Dojat, M. (2012). A BOLD signature of eyeblinks in the visual cortex. *NeuroImage*, *61*(1), 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.03.001>
- Ichikawa, N., & Ohira, H. (2003). Eyeblink Activity as an Index of Cognitive Processing: Temporal Distribution of Eyeblinks as an Indicator of Expectancy in Semantic Priming. *Perceptual and Motor Skills*, *98*(1), 131–140. <https://doi.org/10.2466/pms.98.1.131-140>
- Jarvis, E. D., Güntürkün, O., Bruce, L., Csillag, A., Karten, H., Kuenzel, W., Medina, L., Paxinos, G., Perkel, D. J., Shimizu, T., Striedter, G., Wild, J. M., Ball, G. F., Dugas-Ford, J., Durand, S. E., Hough, G. E., Husband, S., Kubikova, L., Lee, D. W., ... Consortium, A. B. N. (2005). Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*(2), 151–159. <https://doi.org/10.1038/nrn1606>
- JR., S. (1978). Eye blink and schizophrenia: psychosis or tardive dyskinesia? *The American Journal of Psychiatry*, *135*(2), 223–226. <https://doi.org/10.1176/ajp.135.2.223>
- Kaminer, J., Powers, A. S., Horn, K. G., Hui, C., & Evinger, C. (2011). Characterizing the Spontaneous Blink Generator: An Animal Model. *The Journal of Neuroscience*, *31*(31), 11256–11267. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.6218-10.2011>
- Karson, C. N. (1979). Oculomotor signs in a psychiatric population: a preliminary report. *American Journal of Psychiatry*, *136*(8), 1057–1060. <https://doi.org/10.1176/ajp.136.8.1057>
- Karson, C. N. (1983). Spontaneous Eye-Blink Rates And Dopaminergic Systems. *Brain*, *106*(3), 643–653. <https://doi.org/10.1093/brain/106.3.643>
- Karson, C. N., Bigelow, L. B., Kleinman, J. E., Weinberger, D. R., & Wyatt, R. J. (1982). Haloperidol-Induced Changes in Blink Rates Correlate with Changes in

BPRS Score. *British Journal of Psychiatry*, 140(5), 503–507. <https://doi.org/10.1192/bjp.140.5.503>

Karson, C. N., Lewitt, P. A., Calne, D. B., & Wyatt, R. J. (1982). Blink rates in parkinsonism. *Annals of Neurology*, 12(6), 580–583. <https://doi.org/10.1002/ana.410120614>

Karson, C. N., Staub, R. A., Kleinman, J. E., & Wyatt, R. J. (1981). Blink rates and receptor supersensitivity. *Neuropharmacology*, 20(1), 91–93. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(81\)90049-6](https://doi.org/10.1016/0028-3908(81)90049-6)

Karten, H. J. (1969). The Organization Of The Avian Telencephalon And Some Speculations On The Phylogeny Of The Amniote Telencephalon\*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 167(1), 164–179. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1969.tb20442.x>

Karten, H. J., Hodos, W., Nauta, W. J. H., & Revzin, A. M. (1973). Neural connections of the “visual wulst” of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). *The Journal of Comparative Neurology*, 150(3), 253–277. <https://doi.org/10.1002/cne.901500303>

Katnani, H. A., Opstal, A. J. V., & Gandhi, N. J. (2012). Blink Perturbation Effects on Saccades Evoked by Microstimulation of the Superior Colliculus. *PLoS ONE*, 7(12), e51843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051843>

Kennedy, E. P. and W. P. (1927). On The Act Of Blinking. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1113/expphysiol.1927.sp000433>  
Kirsten, S. J., & Kirsten, E. B. (1983). Spontaneous Blink Rates of Birds. *The Condor*, 85(1), 92–93. <https://doi.org/10.2307/1367896>

Knudsen, E. I. (2020). Evolution of neural processing for visual perception in vertebrates. *Journal of Comparative Neurology*, 528(17), 2888–2901. <https://doi.org/10.1002/cne.24871>

Korošec, M., Zidar, I., Reits, D., Evinger, C., & VanderWerf, F. (2006). Eyelid movements during blinking in patients with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 21(8), 1248–1251. <https://doi.org/10.1002/mds.20930>

Lasker, A. G., & Zee, D. S. (1997). Ocular motor abnormalities in Huntington's disease. *Vision Research*, 37(24), 3639–3645. [https://doi.org/10.1016/s0042-6989\(96\)00169-1](https://doi.org/10.1016/s0042-6989(96)00169-1)

Levy, O., Dayan, T., & Kronfeld-Schor, N. (2007). The Relationship between the Golden Spiny Mouse Circadian System and Its Diurnal Activity: An Experimental Field Enclosures and Laboratory Study. *Chronobiology International*, 24(4), 599–613. <https://doi.org/10.1080/07420520701534640>

Liu, C. C., Hajra, S. G., Cheung, T. P. L., Song, X., & D'Arcy, R. C. N. (2017). Spontaneous Blinks Activate the Precuneus: Characterizing Blink-Related Oscillations

Using Magnetoencephalography. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 489. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00489>

Mackert, A., Flechtner, K.-M., Woyth, C., & Frick, K. (1991). Increased blink rates in schizophrenics influences of neuroleptics and psychopathology. *Schizophrenia Research*, 4(1), 41–47. [https://doi.org/10.1016/0920-9964\(91\)90008-f](https://doi.org/10.1016/0920-9964(91)90008-f)

Mackert, A., Woyth, C., Flechtner, K.-M., & Volz, H.-P. (1990). Increased blink rate in drug-naive acute schizophrenic patients. *Biological Psychiatry*, 27(11), 1197–1202. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(90\)90417-z](https://doi.org/10.1016/0006-3223(90)90417-z)

Manning, K. A., Riggs, L. A., & Komenda, J. K. (1983). Reflex eyeblinks and visual suppression. *Perception & Psychophysics*, 34(3), 250–256. <https://doi.org/10.3758/bf03202953>

Markowitz, J. E., Gillis, W. F., Jay, M., Wood, J., Harris, R. W., Cieszkowski, R., Scott, R., Brann, D., Koveal, D., Kula, T., Weinreb, C., Osman, M. A. M., Pinto, S. R., Uchida, N., Linderman, S. W., Sabatini, B. L., & Datta, S. R. (2023). Spontaneous behaviour is structured by reinforcement without explicit reward. *Nature*, 614(7946), 108–117. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05611-2>

Martin, J.-R. (2004). A portrait of locomotor behaviour in *Drosophila* determined by a video-tracking paradigm. *Behavioural Processes*, 67(2), 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2004.04.003>

Marzluff, J. M., Miyaoka, R., Minoshima, S., & Cross, D. J. (2012). Brain imaging reveals neuronal circuitry underlying the crow's perception of human faces. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(39), 15912–15917. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206109109>

Matsumoto-Oda, A., Okamoto, K., Takahashi, K., & Ohira, H. (2018). Group size effects on inter-blink interval as an indicator of antipredator vigilance in wild baboons. *Scientific Reports*, 8(1), 10062. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28174-7>

Medina, L., Reiner, A., Medina, L., & Reiner, A. (2000). Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? *Trends in Neurosciences*, 23(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(99\)01486-1](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(99)01486-1)

Merkies, K., Ready, C., Farkas, L., & Hodder, A. (2019). Eye Blink Rates and Eyelid Twitches as a Non-Invasive Measure of Stress in the Domestic Horse. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, 9(8), 562. <https://doi.org/10.3390/ani9080562>

Mott, R. O., Hawthorne, S. J., & McBride, S. D. (2020). Blink rate as a measure of stress and attention in the domestic horse (*Equus caballus*). *Scientific Reports*, 10(1), 21409. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78386-z>

Naase, T., Doughty, M. J., & Button, N. F. (2005). An assessment of the pattern of spontaneous eyeblink activity under the influence of topical ocular anaesthesia. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 243(4), 306–312. <https://doi.org/10.1007/s00417-004-0990-z>

Nakamori, K., Odawara, M., Nakajima, T., Mizutani, T., & Tsubota, K. (1997). Blinking Is Controlled Primarily by Ocular Surface Conditions. *American Journal of Ophthalmology*, *124*(1), 24–30. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)71639-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)71639-3)

Nakano, T. (2015). Blink-related dynamic switching between internal and external orienting networks while viewing videos. *Neuroscience Research*, *96*, 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.02.010>

Nakano, T., Kato, M., Morito, Y., Itoi, S., & Kitazawa, S. (2013). Blink-related momentary activation of the default mode network while viewing videos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(2), 702–706. <https://doi.org/10.1073/pnas.1214804110>

Nakano, T., Yamamoto, Y., Kitajo, K., Takahashi, T., & Kitazawa, S. (2009). Synchronization of spontaneous eyeblinks while viewing video stories. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *276*(1673), 3635–3644. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0828>

Oh, J., Jeong, S.-Y., & Jeong, J. (2012). The timing and temporal patterns of eye blinking are dynamically modulated by attention. *Human Movement Science*, *31*(6), 1353–1365. <https://doi.org/10.1016/j.humov.2012.06.003>

Orchard, L. N., & Stern, J. A. (1991). Blinks as an index of cognitive activity during reading. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, *26*(2), 108–116. <https://doi.org/10.1007/bf02691032>

Ostow, M., & Ostow, M. (1945). The frequency of blinking in mental illness. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, *102*(3), 294–301. <https://doi.org/10.1097/00005053-194509000-00012>

Pérez-Fernández, J., Barandela, M., & Jiménez-López, C. (2021). The Dopaminergic Control of Movement-Evolutionary Considerations. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(20), 11284. <https://doi.org/10.3390/ijms222011284>

Pettigrew, J. D. (1979). Binocular visual processing in the owl's telencephalon. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, *204*(1157), 435–454. <https://doi.org/10.1098/rspb.1979.0038>

Pettigrew, J. D., & Konishi, M. (1976). Neurons Selective for Orientation and Binocular Disparity in the Visual Wulst of the Barn Owl (*Tyto alba*). *Science*, *193*(4254), 675–678. <https://doi.org/10.1126/science.948741>

Philip, P., Sagaspe, P., Taillard, J., Valtat, C., Moore, N., Åkerstedt, T., Charles, A., & Bioulac, B. (2005). Fatigue, Sleepiness, and Performance in Simulated Versus Real Driving Conditions. *Sleep*, *28*(12), 1511–1516. <https://doi.org/10.1093/sleep/28.12.1511>

- Pinto, L., & Baron, J. (2009). Spatiotemporal frequency and speed tuning in the owl visual wulst. *European Journal of Neuroscience*, *30*(7), 1251–1268. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06918.x>
- Reiner, A., Yamamoto, K., & Karten, H. J. (2005). Organization and evolution of the avian forebrain. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, *287A*(1), 1080–1102. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20253>
- Ridder, W. H., & Tomlinson, A. (1997). A comparison of saccadic and blink suppression in normal observers. *Vision Research*, *37*(22), 3171–3179. [https://doi.org/10.1016/s0042-6989\(97\)00110-7](https://doi.org/10.1016/s0042-6989(97)00110-7)
- Riggs, L. A., Volkman, F. C., & Moore, R. K. (1981). Suppression of the blackout due to blinks. *Vision Research*, *21*(7), 1075–1079. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(81\)90012-2](https://doi.org/10.1016/0042-6989(81)90012-2)
- Rottach, K. G., Das, V. E., Wohlgenuth, W., Zivotofsky, A. Z., & Leigh, R. J. (1998). Properties of Horizontal Saccades Accompanied by Blinks. *Journal of Neurophysiology*, *79*(6), 2895–2902. <https://doi.org/10.1152/jn.1998.79.6.2895>
- Rowe, Z. W., Robins, J. H., & Rands, S. A. (2021). Red deer *Cervus elaphus* blink more in larger groups. *bioRxiv*, 2020.08.11.245837. <https://doi.org/10.1101/2020.08.11.245837>
- Schnute, J. T., & Groot, K. (1992). Statistical analysis of animal orientation data. *Animal Behaviour*, *43*(1), 15–33. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(05\)80068-5](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(05)80068-5)
- Schultz, K. P., Williams, C. R., & Busetini, C. (2010). Macaque Pontine Omnipause Neurons Play No Direct Role in the Generation of Eye Blinks. *Journal of Neurophysiology*, *103*(4), 2255–2274. <https://doi.org/10.1152/jn.01150.2009>
- Shimizu, T., & Bowers, A. N. (1999). Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. *Behavioural Brain Research*, *98*(2), 183–191. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(98\)00083-7](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(98)00083-7)
- Siegle, G. J., Ichikawa, N., & Steinhauer, S. (2008). Blink before and after you think: Blinks occur prior to and following cognitive load indexed by pupillary responses. *Psychophysiology*, *45*(5), 679–687. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2008.00681.x>
- Sorribes, A., Armendariz, B. G., Lopez-Pigozzi, D., Murga, C., & Polavieja, G. G. de. (2011). The Origin of Behavioral Bursts in Decision-Making Circuitry. *PLoS Computational Biology*, *7*(6), e1002075. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002075>
- Stern, J. A., Walrath, L. C., & Goldstein, R. (1984). The Endogenous Eyeblink. *Psychophysiology*, *21*(1), 22–33. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1984.tb02312.x>
- Stevens, J. R., & Livermore, A. (1978). Eye blinking and rapid eye movement: Pulsed photic stimulation of the brain. *Experimental Neurology*, *60*(3), 541–556. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(78\)90009-2](https://doi.org/10.1016/0014-4886(78)90009-2)

- Suryanarayana, S. M., Pérez-Fernández, J., Robertson, B., & Grillner, S. (2022). The Lamprey Forebrain – Evolutionary Implications. *Brain, Behavior and Evolution*, 96(4–6), 318–333. <https://doi.org/10.1159/000517492>
- Székely, G. J., Rizzo, M. L., & Bakirov, N. K. (2007). Measuring and testing dependence by correlation of distances. *The Annals of Statistics*, 35(6), 2769–2794. <https://doi.org/10.1214/009053607000000505>
- Tada, H., Omori, Y., Hirokawa, K., Ohira, H., & Tomonaga, M. (2013). Eye-Blink Behaviors in 71 Species of Primates. *PLoS ONE*, 8(5), e66018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066018>
- Taylor, J. R., Elsworth, J. D., Lawrence, M. S., Jr., J. R. S., Roth, R. H., & Jr., D. E. R. (1999). Spontaneous Blink Rates Correlate with Dopamine Levels in the Caudate Nucleus of MPTP-Treated Monkeys. *Experimental Neurology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/exnr.1999.7093>
- Terhune, D. B., Sullivan, J. G., & Simola, J. M. (2016). Time dilates after spontaneous blinking. *Current Biology*, 26(11), R459–R460. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.04.010>
- Tobler, I., Franken, P., Trachsel, L., & Borbély, A. A. (1992). Models of sleep regulation in mammals. *Journal of Sleep Research*, 1(2), 125–127. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.1992.tb00024.x>
- Tse, P. U., Baumgartner, F. J., & Greenlee, M. W. (2010). Event-related functional MRI of cortical activity evoked by microsaccades, small visually-guided saccades, and eyeblinks in human visual cortex. *NeuroImage*, 49(1), 805–816. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.07.052>
- Turner, K. L., Gheres, K. W., & Drew, P. J. (2022). Relating pupil diameter and blinking to cortical activity and hemodynamics across arousal states. *bioRxiv*, 2022.06.15.496309. <https://doi.org/10.1101/2022.06.15.496309>
- VanderWerf, F., Brassinga, P., Reits, D., Aramideh, M., & Visser, B. O. de. (2003). Eyelid Movements: Behavioral Studies of Blinking in Humans Under Different Stimulus Conditions. *Journal of Neurophysiology*, 89(5), 2784–2796. <https://doi.org/10.1152/jn.00557.2002>
- Volkman, F. C. (1986). Human visual suppression. *Vision Research*, 26(9), 1401–1416. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(86\)90164-1](https://doi.org/10.1016/0042-6989(86)90164-1)
- Volkman, F. C., Riggs, L. A., Ellicott, A. G., & Moore, R. K. (1982). Measurements of visual suppression during opening, closing and blinking of the eyes. *Vision Research*, 22(8), 991–996. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(82\)90035-9](https://doi.org/10.1016/0042-6989(82)90035-9)
- Volkman, F. C., Riggs, L. A., & Moore, R. K. (1980). Eyeblinks and Visual Suppression. *Science*, 207(4433), 900–902. <https://doi.org/10.1126/science.7355270>

- Walls, G. L. (1963). *THE VERTEBRATE EYE AND ITS ADAPTIVE RADIATION*. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.7369>
- Williamson, S. S., Zivotofsky, A. Z., & Basso, M. A. (2005). Modulation of Gaze-Evoked Blinks Depends Primarily on Extraretinal Factors. *Journal of Neurophysiology*, *93*(1), 627–632. <https://doi.org/10.1152/jn.00820.2004>
- Wu, Z., Begley, C. G., Situ, P., & Simpson, T. (2014). The Effects of Increasing Ocular Surface Stimulation on Blinking and Sensation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *55*(3), 1555. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-13780>
- Wurtz, R. H. (2008). Neuronal mechanisms of visual stability. *Vision Research*, *48*(20), 2070–2089. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2008.03.021>
- Yanagihara, S., Ikebuchi, M., Mori, C., Tachibana, R. O., & Okanoya, K. (2020). Arousal State-Dependent Alterations in Neural Activity in the Zebra Finch VTA/SNc. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 897. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00897>
- Yorzinski, J. L. (2016). Eye blinking in an avian species is associated with gaze shifts. *Scientific Reports*, *6*(1), 32471. <https://doi.org/10.1038/srep32471>
- Yorzinski, J. L. (2020a). A songbird inhibits blinking behaviour in flight. *Biology Letters*, *16*(12), 20200786. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2020.0786>
- Yorzinski, J. L. (2020b). Blinking behavior in great-tailed grackles (*Quiscalus mexicanus*) increases during simulated rainfall. *Ethology*, *126*(5), 519–527. <https://doi.org/10.1111/eth.13003>
- Yorzinski, J. L., & Argubright, S. (2019). Wind Increases Blinking Behavior in Great-Tailed Grackles (*Quiscalus mexicanus*). *Frontiers in Ecology and Evolution*, *7*, 330. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00330>
- Yorzinski, J. L., Walker, M. K., & Cavalier, R. (2021). A songbird strategically modifies its blinking behavior when viewing human faces. *Animal Cognition*, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10071-021-01476-6>