



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



Universidade Federal do Maranhão

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

# **PUPILOMETRIA COMO INDICADOR NÃO INVASIVO DE ESTRESSE TÉRMICO EM OVELHAS**

**LOURDIVALDO DOS SANTOS MARINHO FILHO**

Chapadinha - MA

2026



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



LOURDIVALDO DOS SANTOS MARINHO FILHO

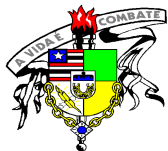
## **PUPILOMETRIA COMO INDICADOR NÃO INVASIVO DE ESTRESSE TÉRMICO EM OVELHAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador(a): Prof. Dr. Nítalo André Farias  
Machado

Chapadinha- MA

2026



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Marinho Filho, Lourdivaldo dos Santos.

Pupilometria como Indicador não invasivo de Estresse de Estresse Térmico em Ovelhas / Lourdivaldo dos Santos

Marinho Filho. - 2026.

53 f.

Coorientador(a) 1: Gustavo André de Araújo Santos.

Coorientador(a) 2: Danielle Maria Machado Ribeiro Azevêdo.

Orientador(a): Nítalo André Farias Machado.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal/ccch, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-graduação Em Ciência Animal/ccch, 2026.

1. Ambiência. 2. Bem-estar Animal. 3. Bioclimatologia. 4. Conforto Térmico. I.



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



LOURDIVALDO DOS SANTOS MARINHO FILHO

## PUPILOMETRIA COMO INDICADOR NÃO INVASIVO DE ESTRESSE TÉRMICO EM OVELHAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Nítalo André Farias Machado (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

---

Prof. Dr. Gustavo André de Araújo Santos (Examinador interno)  
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

---

Profa. Dra. Danielle Maria Machado Ribeiro Azevêdo (Examinador externo)  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Meio-Norte



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



"Onde você estiver, não se esqueça de mim, com quem você estiver não se esqueça de mim, eu quero apenas estar no seu pensamento, por um momento pensar que você pensa em mim".

(Canção de Nana Caymmi · 1998)

*In Memoriam – Ao meu Pai*



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



Ao meu Deus, toda minha família, em especial a minha esposa, filha e aos meus pais e irmãos.

**DEDICO**



## AGRADECIMENTOS

A Deus, toda honra e toda glória, pelas bênçãos alcançadas até os dias de hoje, pelas portas abertas e pelos desafios e metas vencidos. A Ti, Senhor, dedico toda a minha vida.

À minha amada esposa Wágna Maria Silva Pereira Marinho e à minha querida filha Heloísa Pereira Marinho, pelo apoio e incentivo concedidos durante todo o período do mestrado. Vocês são os motivos que me inspiram diariamente a ser um profissional dedicado e comprometido com os meus objetivos de vida.

Aos meus pais, Conceição de Maria Carvalho Santos e Lourdivaldo dos Santos Marinho (*in memoriam*), principais responsáveis pela minha formação pessoal e profissional. Sou e serei eternamente grato pelos ensinamentos, conselhos e pela educação que recebi. Os voos que hoje alcanço só foram possíveis graças a vocês.

Aos meus irmãos, Lúcia Regina dos Santos Marinho e Luís Magno dos Santos Marinho, que estiveram presentes em todas as fases da minha formação e pelo apoio até os dias de hoje.

À minha avó e ao meu tio, Florismar Lisboa Carvalho e Paulo Henrique Carvalho Santos, que foram essenciais para a continuidade dos meus estudos quando mais precisei, diante da ausência física do meu pai.

À minha tia, Flor de Maria Carvalho Santos (*in memoriam*), que sempre será uma inspiração para mim, por seus conselhos, apoio e por sua história de dedicação e luta.

Ao meu querido amigo e orientador, Prof. Dr. Nítalo André Farias Machado, pelo convite, apoio e incentivo à continuidade da vida acadêmica no mestrado. Por meio do professor Nítalo, fui desafiado a retornar às salas de aula e a demonstrar que, mesmo em áreas de pesquisa diferentes da minha formação inicial, é possível, com persistência e dedicação, adquirir novos conhecimentos que transformam vidas e abrem caminhos.



Universidade Federal do Maranhão  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Br 222, Km 74, Bairro Boa Vista, Chapadinha-MA  
Telefone (98) 32729902 E-mail: [ppgca@ufma.br](mailto:ppgca@ufma.br)  
Homepage: <http://www.ppgca.ufma.br>



Aos professores Jordânio Inácio Marques, Patrício Gomes Leite, e Airton Gonçalves de Oliveira, Rosane Cláudia Rodrigues, Ivo Alexandre Leme da Cunha e Nathália dos Santos Martins pelo apoio na instilação da câmara climática e suporte durante o experimento.

Aos membros do laboratório e grupo INOVAR (UFMA), pelo tempo de convivência, compartilhando rotinas intensas de disciplinas, experimentos e pesquisa. Agradeço a cada um de vocês.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA/CCCh), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) e a todos que o compõem, meu muito obrigado por contribuírem de forma significativa para a minha formação.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a pupilometria como técnica para detecção de estresse térmico em ovinos sob condições ambientais controladas. Seis ovelhas mestiças Santa Inês × Dorper, com aproximadamente 7 meses de idade e peso corporal inicial de  $23,70 \pm 5,73$  kg (média  $\pm$  DP), foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas, sendo submetidas a três condições de temperatura do ar controladas (26, 29 e 34 °C; 65% de umidade relativa) em câmara climática, sob condições de iluminação padronizadas. A área pupilar (AP) foi obtida a partir de gravações de vídeo, extraindo-se as imagens e processando-as manualmente para análise. As respostas termorregulatórias, incluindo a frequência respiratória (FR), a frequência cardíaca (FC), o cortisol entre outras, também foram avaliados. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey e as associações foram avaliadas por correlação de Pearson ( $P \leq 0,05$ ). AP aumentou  $16,05 \text{ mm}^2$  ( $\approx 20\%$ ) entre 26 e 34 °C. A FR e a FC aumentaram progressivamente entre 26, 29 e 34 °C ( $P < 0,001$ ), enquanto o cortisol apresentou elevação de aproximadamente 66% ( $P = 0,01$ ). Foram observadas fortes correlações positivas entre AP e FR ( $r = 0,88$ ), FC ( $r = 0,87$ ) e cortisol ( $r = 0,84$ ). Em conclusão, a dinâmica pupilar está associada às respostas termorregulatórias de ovelhas submetidas a estresse térmico, destacando o potencial da pupilometria em animais de produção. No entanto, mais pesquisas são necessárias para desenvolver soluções tecnológicas que permitam a aplicação prática em fazendas.

**Palavras-chave:** Ambiência, Bem-estar animal, Bioclimatologia, Conforto térmico.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate pupillometry as a technique for detecting heat stress in sheep under controlled environmental conditions. Six crossbred Santa Inês × Dorper ewes, approximately 7 months old and with an initial body weight of  $23.70 \pm 5.73$  kg (mean  $\pm$  SD), were assigned to a completely randomized design with repeated measures and exposed to three controlled air temperature conditions (26, 29, and 34 °C; 65% relative humidity) in a climatic chamber under standardized lighting. Pupillary area (PA) was obtained from video recordings by extracting images and processing them manually for analysis. Thermoregulatory responses, including respiratory rate (RR), heart rate (HR), and cortisol, among others, were also evaluated. Means were compared using Tukey's test, and associations were assessed using Pearson's correlation ( $P \leq 0.05$ ). PA increased by  $16.05 \text{ mm}^2$  ( $\approx 20\%$ ) between 26 and 34 °C. RR and HR increased progressively across 26, 29, and 34 °C ( $P < 0.001$ ), while cortisol increased by approximately 66% ( $P = 0.01$ ). Strong positive correlations were observed between PA and RR ( $r = 0.88$ ), HR ( $r = 0.87$ ), and cortisol ( $r = 0.84$ ). In conclusion, pupillary dynamics are associated with thermoregulatory responses in ewes exposed to heat stress, highlighting the potential of pupillometry in production animals. However, further research is needed to develop technological solutions that enable practical on-farm applications.

**Key-words:** Ambience, Animal welfare, Bioclimatology, Thermal comfort.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**ITU** = Índice de Temperatura e Umidade  
**SNA** = Sistema Nervoso Autônomo  
**DP** = Desvio Padrão  
**NRC** = National Research Council  
**MS** = Matéria seca  
**PB** = Proteína bruta  
**EE** = Extrato etéreo  
**FDN** = Fibra detergente neutra  
**FDA** = Fibra detergente ácida  
**NDT** = Nutrientes digestíveis totais  
**EDTA-k<sub>3</sub>** = Ácido Etilenodiaminotetracético Tripotássico  
**UV** = Ultravioleta  
**NADP<sup>+</sup>** = Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato  
**T3** = Triiodotironina total  
**T4** = Tiroxina total  
**LS** = Médias dos Quadrados Mínimos  
**SEM** = Erro Padrão  
**EPM** = Erro Padrão da Média  
**AP** = Área Pupilar  
**FR** = Frequência Respiratória  
**FC** = Frequência Cardíaca  
**CK** = Creatina Quinase  
**mrm** = Movimentos por minutos  
**bpm** = Batimentos por minutos  
**ng** = Nanogramas por mililitro  
**Hb** = hemoglobina  
**g** = Grama  
**dL** = Decilitro  
**mL** = Mililitro  
**T** = Tratamento  
**D** = Dia

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição centesimal e química da dieta .....	32
<b>Tabela 2.</b> Respostas pupilares e termorregulatórias das ovelhas .....	38
<b>Tabela 3.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre as respostas pupilares e termorregulatórias das ovelhas .....	40

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Crescimento do efetivo de ovinos entre 2012-2024 no Brasil .....	17
<b>Figura 2.</b> Distribuição de rebanho ovino no Maranhão .....	18
<b>Figura 3.</b> Câmara climática utilizada no experimento .....	28
<b>Figura 4.</b> <i>Layout</i> experimental da câmara climática, incluindo a disposição dos equipamentos, dos animais e da sala de controle adjacente .....	30
<b>Figura 5.</b> Exemplo de uma imagem ocular mostrando a escala de referência fixada no animal para converter as medidas em pixels em milímetros .....	33
<b>Figura 6.</b> Procedimento utilizado para a medição da área pupilar em ovelhas: delineamento manual da pupila, com a área pupilar inicialmente obtida em cm <sup>2</sup> e posteriormente convertida para mm <sup>2</sup> .....	34
<b>Figura 7.</b> Processamento de amostras coletadas durante a fase experimental para fins de determinação dos indicadores fisiológicos de estresse térmico .....	35
<b>Figura 8.</b> Gráficos Raincloud Plots da área pupilar (AP) e as respostas termorregulatórias de ovelhas .....	41

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
<b>2.1 Ovinocultura</b> .....	17
2.2 Bem-estar animal .....	19
2.3 Termorregulação em ovinos .....	21
2.4 Avaliação do estresse térmico .....	22
2.5 Métodos não-invasivos de avaliação do estresse térmico .....	24
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	27
3.1 Objetivo Geral Déficit hídrico em culturas forrageiras .....	27
3.2 Objetivos específicos .....	27
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1 Local de estudos, animais e instalações .....	28
4.2 Desenho experimental, tratamento e manejo .....	30
4.3 Medição da área pupilar .....	32
4.4 Registros fisiológicos e coleta de sangue .....	35
4.5 Análises estatísticas .....	36
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	44
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45

## 1. INTRODUÇÃO

A produção pecuária enfrenta um cenário cada vez mais desafiador diante das mudanças climáticas globais. O aumento progressivo da temperatura ambiental, aliado à maior frequência e intensidade de eventos climáticos extremos, tem imposto condições adversas aos sistemas produtivos (Carvajal et al., 2021; Thornton et al., 2022). Na ovinocultura, atividade de grande relevância socioeconômica, esses impactos comprometem o equilíbrio fisiológico, o bem-estar e o desempenho dos animais, resultando em perdas financeiras expressivas (Sejian et al., 2022; Mascarenhas et al., 2023). Nesse contexto, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias que permitam monitorar e mitigar os efeitos do calor sobre os animais.

Tradicionalmente, a avaliação do estresse térmico baseia-se em índices bioclimáticos, como o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), que estimam a carga térmica a partir de propriedades psicrométricas ou termodinâmicas do ar (De Castro Júnior; Silva, 2021). Embora úteis para caracterizar o ambiente em nível populacional, essas abordagens indiretas não refletem o estado fisiológico individual ou a capacidade adaptativa do animal (Hoffmann et al., 2020).

A avaliação individualizada dessas respostas, por sua vez, baseia-se na mensuração de indicadores fisiológicos, como temperatura retal, frequência respiratória, frequência cardíaca e parâmetros sanguíneos (Rashamol et al., 2018). Em geral, são métodos invasivos, que exigem contenção, induzem estresse de manejo e demandam mão de obra qualificada, inviabilizando o monitoramento contínuo em tempo real (McManus et al., 2016; Hoffmann et al., 2020; Liang et al., 2025).

Para superar essas limitações, a pupilometria que estuda a medição da área pupilar, surge como uma abordagem fisiológica inovadora e não invasiva. A dinâmica pupilar é regulada de forma antagônica pelo sistema nervoso autônomo (Lempert; Chen; Fleming, 2015), o qual é diretamente ativado pelas respostas neuroendócrinas do estresse térmico. Enquanto em humanos e outras espécies a reatividade pupilar é um indicador consagrado de estresse e carga cognitiva (Lempert; Chen; Fleming, 2015; Machado et al., 2021; Tang et al., 2025), sua aplicação na ovinocultura

permanece praticamente inexplorada (Marques et al., 2018). Essa lacuna científica impede o avanço de ferramentas de diagnóstico precoce centradas no indivíduo.

Portanto, parte-se da hipótese de que a área pupilar reflete respostas autonômicas ao estresse térmico e pode ser utilizada como um indicador fisiológico não invasivo em sistemas de produção animal. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a pupilometria como método para detecção de estresse térmico em ovelhas sob condições microclimáticas controladas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

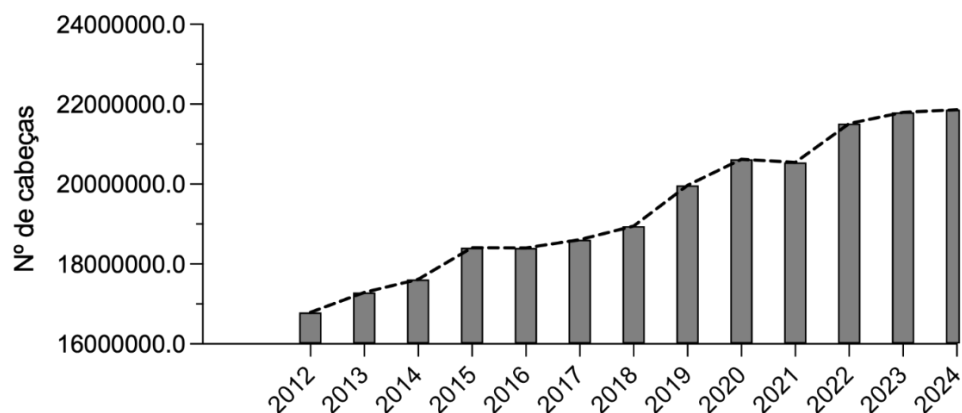
### 2.1. Ovinocultura

Os *Ovis orientalis*, ancestrais dos ovinos domésticos, estão entre as primeiras espécies domesticadas pelo homem, processo que ocorreu na Ásia por volta do 11º milênio antes de Cristo (Vigne, 2011). A ovinocultura é uma das atividades pecuárias mais antigas do mundo, tendo os primeiros animais sido introduzidos no Brasil em 1534 pelos colonizadores portugueses, conforme Vilela (2021).

Ao longo dos séculos, esses rebanhos foram submetidos a um intenso processo de seleção natural sob diferentes condições climáticas, o que resultou na formação de raças naturalizadas altamente rústicas e adaptadas ao ambiente tropical e semiárido do país (McManus et al., 2009).

Atualmente, a ovinocultura brasileira encontra-se em franca expansão e reestruturação produtiva. Historicamente associada à produção de lã na região Sul, a atividade redirecionou seu foco para a produção de carne e derivados, impulsionada pelo aumento do consumo interno, valorização das características sensoriais do produto e busca por sistemas mais eficientes e sustentáveis (Parente et al., 2020; Staudt et al., 2025). O efetivo nacional ultrapassa 21,7 milhões de cabeças, sendo o sistema extensivo o predominante no país (IBGE, 2023; Schram, 2023).

A análise da progressão anual desse rebanho (Figura 1) consolida uma tendência de crescimento consistente, reflexo do interesse gradual do mercado por essa cadeia do agronegócio.

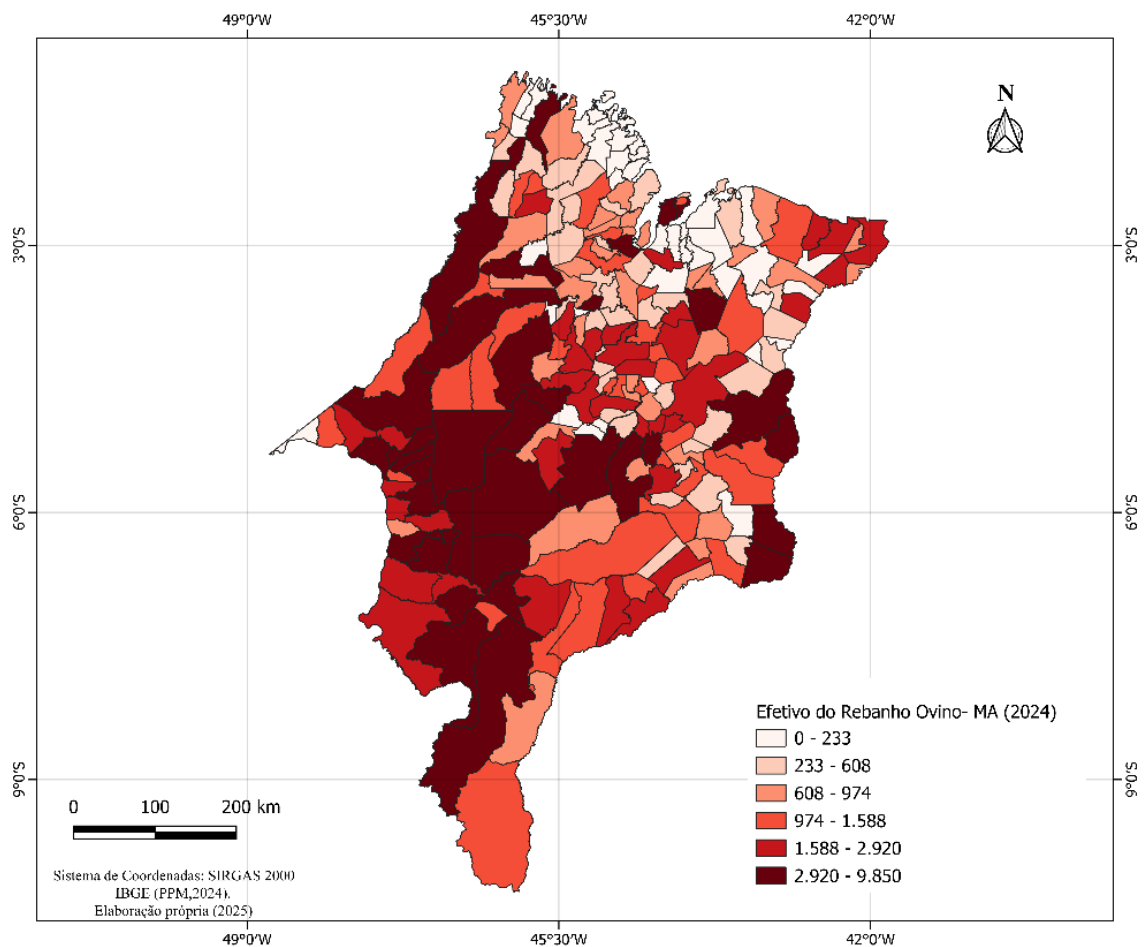


**Figura 1.** Crescimento do efetivo de ovinos entre 2012-2024 no Brasil. **Fonte:** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2024).

Diante da expansão da ovinocultura em regiões tropicais, torna-se essencial compreender como o estresse térmico afeta o bem-estar e a produtividade dos animais, justificando a adoção de métodos não invasivos como a pupilometria.

Como os sistemas comerciais demandam ferramentas práticas e de alta precisão para o monitoramento individualizado do rebanho, a avaliação da dinâmica pupilar surge como uma alternativa promissora para detectar precocemente o estresse calórico sem interferir no manejo ou no comportamento natural das ovelhas. Conforme dados apresentado anteriormente na Figura 1, a análise da progressão anual em números no país entre 2012 e 2024, revela importantes tendências para a ovinocultura nacional, reflexo do interesse gradual pela demanda de produtos derivados de ovinos.

Neste panorama de crescimento, o estado do Maranhão ocupa papel estratégico na região Nordeste, detendo um rebanho de aproximadamente 347.511 cabeças concentradas majoritariamente na região centro-sudeste do estado, conforme ilustrado na Figura 2.



**Figura 2.** Distribuição de rebanho ovino no Maranhão. **Fonte:** Araújo (2026).

O território maranhense apresenta forte aptidão para a atividade devido à sua extensão e por integrar a fronteira agrícola do MATOPIBA composto pelos estados Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia, o que garante a oferta contínua de grãos para a alimentação animal (Polizel et al., 2021; Gomes et al., 2025).

No entanto, o clima predominantemente tropical úmido do estado, com temperatura média anual em torno de 28 °C (De Oliveira Aparecido et al., 2023), impõe severos desafios bioclimáticos aos rebanhos.

## **2.2. Bem-estar animal**

Para compreender e avaliar o bem-estar animal no cenário da produção pecuária atual, faz-se necessária a adoção de definições claras e métodos objetivos validados cientificamente.

A conceituação mais aceita na literatura, proposta por Broom (1986), compreende o bem-estar como o estado biológico de um indivíduo frente às suas demandas de adaptação ao ecossistema. Complementando essa visão, a OIE (2013) afirma que o bem-estar reflete a resposta integrada do organismo às suas condições de vida, sendo que níveis elevados são alcançados quando o animal está saudável, seguro, livre de dor e capaz de expressar seus padrões comportamentais naturais.

Sob a ótica zootécnica, Mellor (2017) ressalta que essa compreensão deve transcender a mera ausência de sofrimento, englobando a presença de estados mentais positivos decorrentes de um ambiente estimulante.

Como ferramenta científica de avaliação para mensurar esses estados, o modelo dos “Cinco Domínios”, sistematizado por Mellor & Reid (1994), destaca-se ao enfatizar tanto os aspectos físicos quanto mentais dos indivíduos. O modelo estrutura-se a partir de quatro domínios físicos e funcionais (Nutrição, Ambiente, Saúde e Comportamento), que ambos, em conjunto, determinam o quinto domínio, denominado “Mental”.

Recentemente, essa metodologia foi atualizada para refinar os domínios existentes, mudando o foco puramente focado na redução de aspectos negativos para a promoção ativa de estados mentais positivos. No domínio comportamental, por exemplo, o fomento de interações sociais e o estímulo à senciência permitem a plena

expressão de comportamentos típicos, resultando em conforto e resiliência biológica (McLennan, 2022).

A manutenção dessas condições ideais de manejo deixou de ser uma questão meramente ética para se tornar um pilar da eficiência zootécnica e da viabilidade econômica. A correlação entre o bem-estar e a qualidade final dos produtos de origem animal é um consenso estabelecido (Keeling et al., 2019; Buller et al., 2020), visto que manejos inadequados resultam em alterações neuroendócrinas que reduzem a integridade imunológica e a eficiência reprodutiva do rebanho (Sejian et al., 2021).

Esse paradigma ganha relevância acentuada diante de um mercado consumidor contemporâneo cada vez mais exigente, que valoriza a transparência e o rigor ético nos sistemas de criação, tornando o bem-estar um critério indispensável para a sustentabilidade e a competitividade das cadeias globais de proteína (Alonso et al., 2020).

No entanto, a garantia do bem-estar torna-se complexa em sistemas de pequenos ruminantes mantidos em regiões tropicais, como o Nordeste brasileiro. Embora a complexidade ambiental nesses sistemas promova a expressão de comportamentos típicos de pastoreio e reduza anomalias comportamentais (Broom, 2019), os rebanhos locais têm enfrentado desafios severos decorrentes das mudanças climáticas. Mesmo raças deslanadas e reconhecidas por sua adaptabilidade, como a raça Santa Inês, são constantemente expostas a desafios ambientais e metabólicos rigorosos que comprometem seu potencial biológico e depreciam a qualidade final da carne e do leite.

No contexto da ovinocultura tropical, o estresse térmico é um dos principais fatores que comprometem o bem-estar, justificando a busca por indicadores fisiológicos não invasivos, como a pupilometria. Quando os ovinos são expostos a altas temperaturas, a ativação de mecanismos termorregulatórios complexos desvia a energia que seria direcionada ao crescimento e à produção para a manutenção da homeostase.

Dessa forma, a avaliação da dinâmica pupilar ascende como uma alternativa metodológica promissora e de alta precisão, capaz de monitorar as respostas autonômicas dos animais ao calor de forma contínua, individualizada e perfeitamente integrada aos preceitos modernos de bem-estar na pecuária de precisão.

### 2.3. Termorregulação em ovinos

Os ovinos são animais homeotérmicos capazes de manter a temperatura corporal interna relativamente constante, mesmo diante de variações ambientais (Marai et al., 2007). Essa capacidade é resultado do equilíbrio entre a produção metabólica de calor e os mecanismos de dissipação, os quais incluem trocas sensíveis por condução, convecção e radiação, além de latentes por via evaporativa (Da Silva, 2013).

A eficiência desses processos depende, fundamentalmente, do gradiente térmico entre o animal e o meio, de modo que, quanto maior esse gradiente, maior será a capacidade de perda de calor (Maia et al., 2016).

Em condições ideais, esses sistemas são suficientes para assegurar a homeostase (Van Wettere et al., 2021); contudo, em ambientes tropicais que são marcados por altas temperaturas e intensa radiação solar, a dissipação térmica se torna severamente limitada, induzindo o animal ao estresse calórico (Machado et al., 2020; Sejian et al., 2022).

Esse cenário de desafio bioclimático é a realidade predominante nos sistemas de criação extensivos da região Nordeste do Brasil, onde a elevada carga térmica ambiental e a escassez de sombreamento exigem uma ativação drástica e contínua dos mecanismos fisiológicos de defesa dos ovinos (Fonsêca et al., 2019). Do ponto de vista sistêmico, as primeiras respostas adaptativas incluem o incremento acentuado da frequência respiratória, a indução da sudorese e a alteração na circulação periférica para maximizar a perda evaporativa e convectiva (Fonsêca et al., 2019).

Embora vitais para a sobrevivência, essas reações geram um custo energético elevado, desencadeiam distúrbios metabólicos secundários como a alcalose respiratória, e reduzem substancialmente a ingestão de matéria seca para minimizar o incremento calórico da digestão, penalizando diretamente o ganho de peso e o desempenho produtivo (Marai et al., 2007; Da Silva; Parente et al., 2020).

A eficiência e o tempo de resposta dessa engrenagem termorreguladora variam de acordo com fatores intrínsecos como a idade, o estado fisiológico, as características do pelame e a raça, observando-se que genótipos deslanados

adaptados aos trópicos toleram melhor essas variações do que raças de origem europeia (Van Wettere et al., 2024; Oyieng et al., 2025). Independentemente do grau de adaptação, o estresse térmico consolida-se como o principal fator limitante para a produção ovina regional, afetando de forma indissociável a saúde, a eficiência reprodutiva e o bem-estar animal (Rashamol et al., 2018). Embora intervenções ambientais como o fornecimento de sombreamento e a adequação de instalações sejam fundamentais para mitigar tais impactos (Sejian et al., 2022), o monitoramento preciso do status térmico individual permanece um desafio.

Esses mecanismos de termorregulação estão associados à ativação autonômica, que também influencia a dinâmica pupilar, justificando a investigação da pupilometria como indicador não invasivo. Uma vez que o estresse térmico recruta vias neuroendócrinas complexas coordenadas pelo sistema nervoso simpático e parassimpático, a mensuração em tempo real da área pupilar se estabelece como uma ponte direta e inovadora para decodificar o nível de ativação fisiológica adaptativa do animal ao calor, superando as barreiras metodológicas dos parâmetros biometeorológicos e fisiológicos tradicionais.

#### **2.4. Avaliação do estresse térmico**

A avaliação do estresse térmico em animais de produção tem sido, historicamente, fundamentada na mensuração de parâmetros fisiológicos clássicos, amplamente reconhecidos como indicadores diretos das respostas do organismo às condições ambientais. Dentre esses, destacam-se a temperatura retal, a frequência respiratória e a frequência cardíaca, variáveis que refletem, de forma integrada, os mecanismos termorregulatórios e o estado homeostático do animal (Mitchell et al., 2025).

A temperatura retal é considerada um dos principais indicadores da temperatura central, sendo amplamente utilizada para avaliar o grau de comprometimento térmico do organismo (Nielsen et al., 2022). Sua mensuração é geralmente realizada por meio da inserção de termômetros clínicos no reto do animal, garantindo contato com a mucosa e maior precisão na leitura (Silva et al., 2023).

A frequência respiratória representa um dos primeiros sinais de ativação dos mecanismos de dissipação de calor, especialmente em ambientes quentes, nos quais a perda de calor sensível se torna limitada. Nessa condição, o aumento da frequência respiratória reflete a intensificação das trocas evaporativas, constituindo um indicador sensível e precoce do início do estresse térmico (Jongbo et al., 2026). A frequência cardíaca, por sua vez, está associada às adaptações circulatórias que visam otimizar a redistribuição do fluxo sanguíneo, favorecendo a dissipação de calor pela periferia corporal (Maia, 2005).

Apesar da relevância desses indicadores, sua obtenção apresenta limitações importantes, sobretudo no contexto da pecuária de precisão e do monitoramento contínuo. A mensuração dessas variáveis exige, na maioria das vezes, o contato direto com os animais, implicando a necessidade de contenção física ou manipulação individual. Esse processo, além de demandar tempo e mão de obra qualificada, introduz um fator de interferência significativo, uma vez que o próprio manejo pode desencadear respostas fisiológicas independentes do estresse térmico ambiental.

A manipulação necessária para a coleta desses dados, como a inserção de termômetros retais ou a auscultação com estetoscópio, pode induzir respostas agudas de estresse, mediadas pela ativação do sistema nervoso simpático (Liang et al., 2025). Esse processo resulta na liberação de catecolaminas, como adrenalina e noradrenalina, promovendo aumentos transitórios na frequência cardíaca e respiratória (Mitchell et al., 2025). Dessa forma, os valores obtidos podem refletir não apenas a condição térmica do ambiente, mas também a resposta comportamental e emocional do animal ao manejo, dificultando a interpretação dos dados.

Essa limitação compromete a acurácia das avaliações e dificulta a distinção entre respostas fisiológicas adaptativas ao estresse térmico e reações decorrentes do estresse de contenção. Como consequência, os dados obtidos podem não representar fielmente o estado fisiológico basal dos animais em condições naturais, reduzindo a confiabilidade dos indicadores quando utilizados para inferir conforto térmico em sistemas produtivos reais.

Há métodos que utilizam dispositivos internos para monitoramento contínuo, como *data loggers* para aferição da temperatura vaginal ou ruminal, têm sido empregados como alternativas para reduzir a necessidade de manejo frequente (Silva

et al., 2023). Embora esses dispositivos possibilitem a coleta de dados em tempo real, sua utilização levanta questionamentos relevantes do ponto de vista do bem-estar animal. Por envolverem a inserção de sensores no organismo, esses métodos são considerados invasivos e podem interferir na integridade física e no comportamento natural dos animais.

Outro aspecto limitante dos métodos tradicionais refere-se à sua baixa escalabilidade e aplicabilidade em sistemas comerciais de grande porte (Liang et al., 2025). A necessidade de manejo individualizado dificulta a implementação de monitoramento contínuo em larga escala, tornando esses métodos pouco eficientes para a detecção precoce de alterações fisiológicas em rebanhos extensivos ou semi-intensivos.

## **2.5. Métodos não-invasivos de avaliação do estresse térmico**

A crescente preocupação com o bem-estar animal tem impulsionado o desenvolvimento de tecnologias de monitoramento não invasivo, que se diferenciam dos métodos convencionais por dispensarem a contenção e o contato físico direto com os animais. Essas abordagens baseiam-se, principalmente, em técnicas de sensoriamento remoto e análise de imagens, permitindo a coleta contínua de dados fisiológicos e comportamentais sem interferir na expressão natural dos indivíduos.

A termografia infravermelha tem se consolidado como uma ferramenta robusta para o monitoramento da dissipação de calor superficial (Mota-Rojas et al., 2022, 2024). Essa técnica permite a identificação de padrões térmicos associados à vasodilatação periférica, refletindo a dinâmica das trocas de calor entre o animal e o ambiente (Barreto et al., 2020; Leite et al., 2022). Estudos demonstram que a análise de regiões anatômicas específicas, denominadas janelas térmicas, como a carúncula lacrimal e o focinho, apresenta elevada correlação com a temperatura corporal interna, oferecendo uma alternativa confiável e não invasiva aos métodos tradicionais (Arfuso et al., 2022; Neto et al., 2025). Além disso, a possibilidade de obtenção de imagens em tempo real permite avaliar rapidamente o estado térmico dos animais, sem interromper seu comportamento natural.

A avaliação do estresse térmico também pode ser realizada por meio de índices bioclimáticos, que integram variáveis ambientais, como temperatura do ar, umidade relativa, radiação solar e velocidade do vento (Sousa et al., 2025). Dentre os mais utilizados, destaca-se o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), amplamente aplicado na estimativa da carga térmica ambiental imposta aos animais. Esses índices fornecem uma visão geral das condições climáticas e permitem classificar níveis de risco (De Castro Júnior; Silva, 2021). No entanto, apresentam limitações por não considerarem as respostas fisiológicas individuais, podendo subestimar ou superestimar o estresse em determinados contextos produtivos.

Adicionalmente, a análise do comportamento animal constitui uma ferramenta importante na avaliação do estresse térmico, e o bem-estar do animal (Dawkins, 2004; Oliveira et al., 2021). Alterações comportamentais, como aumento da frequência de ofegação, redução da ingestão de alimento, maior tempo em estação, busca por sombra e mudanças nos padrões de descanso, são respostas frequentemente observadas em condições de desconforto térmico (Abdulai; Sama; Jackson, 2021; McLennan et al., 2016). Essas respostas refletem estratégias adaptativas do animal para minimizar a carga térmica corporal, sendo consideradas indicadores indiretos, porém sensíveis, do estado de bem-estar.

A pupilometria consiste na mensuração precisa das variações no diâmetro ou na área da pupila em resposta a diferentes estímulos. A dinâmica pupilar é regulada pelo equilíbrio entre os sistemas nervosos simpático e parassimpático, o que a torna um reflexo direto da atividade do sistema nervoso autônomo (SNA) (Marques et al., 2018). De maneira análoga aos mecanismos de termorregulação, a pupila responde a alterações fisiológicas e ambientais, sendo modulada por estados emocionais e condições de estresse, incluindo o estresse térmico.

Nas últimas décadas, a pupilometria tem se consolidado como uma ferramenta inovadora e objetiva, especialmente com o avanço de técnicas de processamento de imagens e sensores ópticos, como sistemas baseados em infravermelho (Piaggio et al., 2021). Apesar de seu amplo uso na medicina humana, particularmente em exames oftalmológicos e na avaliação de respostas neurofisiológicas (Banks et al., 2015; Magnin et al., 2026; Rodrigues et al., 2024; Solyman et al., 2022b; Tang et al., 2025),

a aplicação da pupilometria na medicina veterinária e na zootecnia ainda é relativamente recente e apresenta desafios metodológicos.

No campo da pupilometria, Lin et al. (2018) avaliaram a razão entre a área da íris e da pupila como um índice não invasivo de estresse em primatas. Indivíduos mantidos em cativeiro apresentaram valores significativamente reduzidos dessa razão, bem como do perímetro íris–pupila, em comparação àqueles em ambiente selvagem, refletindo maior dilatação pupilar. Esse padrão é consistente com aumento da atividade simpática, indicando maior carga de estresse.

Zhang et al. (2025) desenvolveram um sistema automatizado para estimativa da temperatura ocular binocular em ovinos, com base em termografia infravermelha e algoritmos de aprendizado profundo. Embora tenha sido observada forte correlação entre as temperaturas dos olhos direito e esquerdo ( $r = 0,8076$ ;  $p < 0,0001$ ), a associação com a temperatura retal foi fraca e não significativa, sendo esta consistentemente mais elevada.

Marques et al., (2018) estudaram a dilatação pupilar como indicador de estresse térmico em caprinos mantidos em câmara climática nas temperaturas 26, 29 e 33°C. Os resultados evidenciaram que a dilatação pupilar apresentou correlação significativa com a elevação da temperatura ambiente e com o aumento da frequência respiratória e cardíaca, demonstrando ser um parâmetro sensível para identificar o estresse térmico em caprinos. Os autores constataram um aumento 26,96 mm<sup>2</sup> a 33 °C em comparação a 26 °C.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar o potencial da pupilometria como método não invasivo para o monitoramento do estresse térmico em ovinos, por meio da análise das respostas pupilares em diferentes condições de temperatura ambiental controlada.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Quantificar as alterações na área pupilar de ovinos submetidos a diferentes temperaturas do ar (26, 29 e 34 °C);
- Comparar as respostas pupilares com variáveis fisiológicas clássicas de estresse térmico, como frequência respiratória e frequência cardíaca;
- Investigar a associação entre a área pupilar e parâmetros bioquímicos e hormonais (glicose, cortisol, T3, T4 e creatina quinase);
- Verificar o potencial da pupilometria como indicador complementar ou alternativo aos métodos tradicionais de avaliação do estresse térmico em ovinos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Local de estudo, animais e instalações

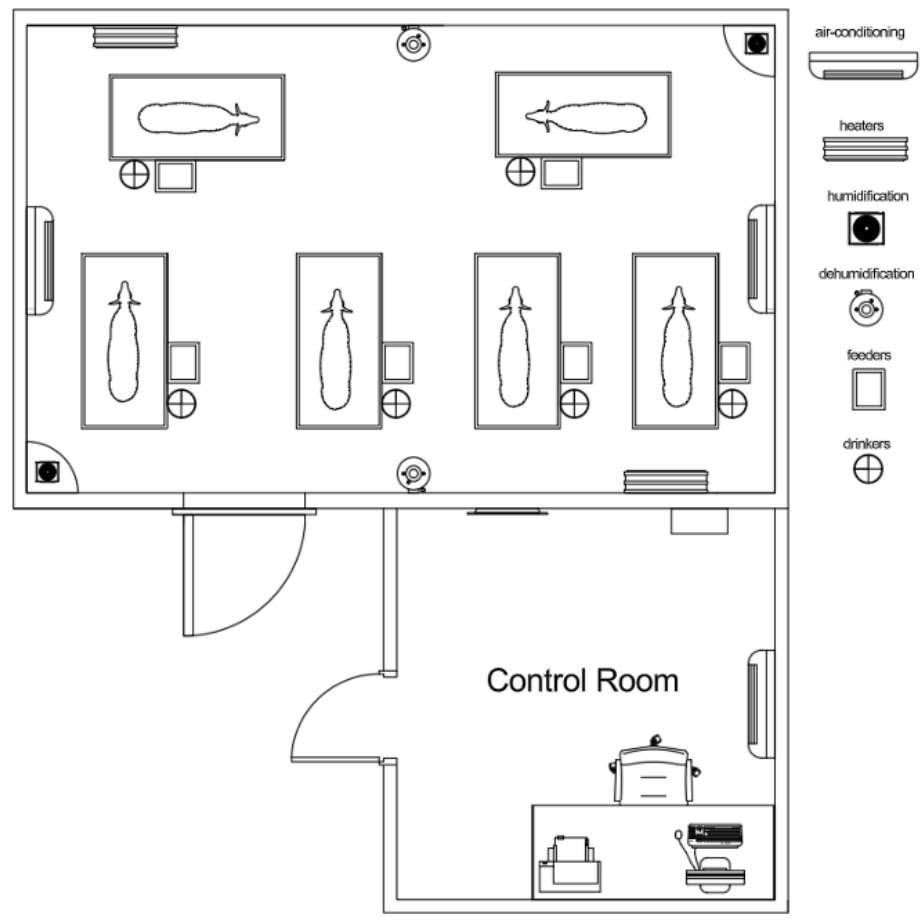
O estudo foi conduzido na Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, nordeste do Brasil (03°44'33" S, 43°21'21" O; 100 m de altitude). Seis ovelhas mestiças Santa Inês × Dorper, clinicamente saudáveis (cerca de 7 meses de idade; peso corporal inicial:  $23,70 \pm 5,73$  kg, média  $\pm$  DP), foram utilizadas. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes institucionais e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal do Maranhão (protocolo n.º 23115.007741/2024-13). Dez dias antes do experimento, as ovelhas foram vermifugadas por administração subcutânea de ivermectina a 2% e permaneceram na área externa por três dias. Em seguida, as ovelhas foram alojadas por um período de adaptação de 15 dias em baias individuais (0,84 m<sup>2</sup> por animal), cada uma equipada com comedouros e bebedouros, instaladas dentro de uma câmara climática (área útil: 20 m<sup>2</sup>; altura do teto: 2,60 m) (Figura 3).



**Figura 3.** Câmara climática utilizada no experimento. **Fonte:** Dados da pesquisa.

A câmara climática foi construída utilizando painéis sanduíche com isolamento térmico, compostos por chapas de aço galvanizado pré-pintadas e um núcleo de poliestireno expandido com propriedades retardantes de chama (densidade aparente  $\geq 13 \text{ kg m}^{-3}$ ; condutividade térmica  $0,026 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ). As superfícies internas e externas foram revestidas com primer epóxi e poliéster, proporcionando resistência à corrosão e alta refletância térmica. O piso foi revestido com ladrilhos cerâmicos para facilitar a higiene. No interior da câmara climática, foram instalados aparelhos de ar-condicionado (Ecoswing Smart R-32 18.000 BTU, Daikin, Japão), desumidificadores comerciais (Pure Ion Max 3 L, Relaxmedic, Brasil), umidificadores (Comfort Air UA-07, Mondial, Brasil) e aquecedores de 2.000 W.

As condições microclimáticas foram reguladas utilizando um controlador de temperatura e umidade (MT-530 PLUS, Full Gauge Controls, Brasil), configurado via software SITRAD para monitorar, registrar e armazenar continuamente a temperatura e a umidade relativa do ar em intervalos de 15 minutos. As condições microclimáticas da câmara foram supervisionadas remotamente a partir de uma sala de controle adjacente (Figura 4). A sala estava equipada com um sistema de monitoramento por vídeo (MHDX 1016-C + VHL 1220B, Intelbras, Brasil), composto por 16 câmeras Full HD (10 para monitoramento da câmara e 6 para gravação ocular) conectadas a um DVR de 2 TB para gravação contínua. A operação do sistema era automatizada, exceto para os umidificadores e desumidificadores, que eram ajustados manualmente. Diariamente, antes do fechamento da câmara, a temperatura e a umidade relativa do ar eram calibradas utilizando um psicrômetro portátil (ITWG-2000, Instrutemp, Brasil).



**Figura 4.** *Layout* experimental da câmara climática, incluindo a disposição dos equipamentos, dos animais e da sala de controle adjacente. **Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2. Desenho experimental, tratamento e manejo

Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas, no qual todas as seis ovelhas foram expostas a três tratamentos de temperatura do ar. Com base na zona de conforto térmico para ovinos descrita por Eustáquio Filho et al. (2011), temperaturas-alvo do ar de 26, 29 e 34 °C foram selecionadas para simular condições de conforto térmico, condições de transição e estresse térmico, respectivamente. As médias das temperaturas alcançadas ( $\pm$  erro padrão da média) foram:  $26,00 \pm 0,48$  °C,  $29,03 \pm 0,53$  °C e  $34,00 \pm 0,28$  °C, respectivamente. A ordem de aplicação do tratamento de temperatura foi determinada por randomização simples. Em todos os tratamentos de temperatura, a umidade relativa e a velocidade

do ar (média  $\pm$  erro padrão da média) foram mantidas em  $65,08 \pm 3,12\%$  e  $1,00 \pm 0,30$  m/s, respectivamente.

Após o período de adaptação de 15 dias, as ovelhas foram expostas às condições microclimáticas simuladas. O protocolo experimental consistiu em um ciclo diário de 8/16 h (temperatura controlada/temperatura ambiente), conforme descrito por Marques et al. (2018). A câmara foi ativada às 06:00 h para um período de estabilização de 2 h; a exposição controlada ocorreu das 08:00 às 16:00 h (8 h de exposição efetiva por dia). Cada tratamento de temperatura (26, 29 e 34 °C) durou oito dias consecutivos de coleta de dados, com um período de recuperação de três dias entre os tratamentos. Após cada período de exposição controlada, o sistema de climatização foi desligado e a câmara permaneceu fechada, permitindo um período de 16 h em condições ambientais.

As ovelhas foram alimentadas duas vezes ao dia (7h e 17h) com uma ração pré-formulada com base nas recomendações *National Research Council* (NRC, 2007), composta por 70% de silagem de milho e 30% de concentrado (Tabela 1). A quantidade de alimento foi ajustada diariamente com base nas sobras do dia anterior para manter aproximadamente 10% de sobras e evitar restrição alimentar. A água estava disponível à vontade durante todo o experimento. A limpeza de rotina foi realizada imediatamente antes da alimentação dos animais e incluiu a remoção das fezes e a lavagem dos baldes de coleta colocados sob os estábulos. A câmara climática foi limpa periodicamente raspando-se o piso e, em seguida, lavando-se com detergente neutro.

**Tabela 1.** Composição centesimal e química da dieta

Ingredientes	Composição da ração (%)
Silagem de milho	70,00
Milho moído	10,80
Bagaço de soja	8,56
Farelo de trigo	10,07
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	0,560
<b>Composição química (% da MS)</b>	
Matéria seca (MS)	51,20
Proteína bruta (PB)	12,10
Extrato etéreo (EE)	3,10
Cinza	4,71
Fibra detergente neutra (FDN)	36,82
Fibra detergente ácida (FDA)	20,61
Nutrientes digestíveis totais (NDT)	72,35

<sup>1</sup>Cálcio 200 g/kg; Fósforo 75 g/kg; Sódio 90 g/kg; Enxofre 10 g/kg; Magnésio 5 g/kg; Ferro 400 mg/kg; Manganês 1.848 mg/kg; Zinco 3.060 mg/kg; Iodo 40 mg/kg; Cobalto 20 mg/kg; Selênio 24 mg/kg; Vitamina A 312.500 UI/kg; Vitamina D<sub>3</sub> 50.000 UI/kg; Vitamina E 437 UI/kg.

### 4.3. Medição da área pupilar

Todas as gravações de vídeo foram realizadas sob condições padronizadas de iluminação artificial que permaneceram constantes em todos os tratamentos de temperatura dentro da câmara climática, isolando os efeitos térmicos na área pupilar das respostas do reflexo pupilar à luz mediadas pela luminância. A iluminação foi fornecida por seis lâmpadas LED (12 W cada) instaladas no teto da câmara climática para fornecer iluminação uniforme ao nível dos olhos do animal. A luminância foi mantida em aproximadamente 320 lx usando iluminação artificial contínua durante um ciclo de 24 horas, sem período escuro, a fim de padronizar as respostas pupilares, eliminando as transições claro-escuro. A intensidade da luz foi verificada diariamente durante a calibração da câmara usando um luxímetro portátil (DT-3809, CEM, China).

As gravações de vídeo foram obtidas utilizando câmeras de CFTV Full HD (2 MP; resolução: 1920 × 1080 pixels; Intelbras, Brasil), posicionadas dentro das baias

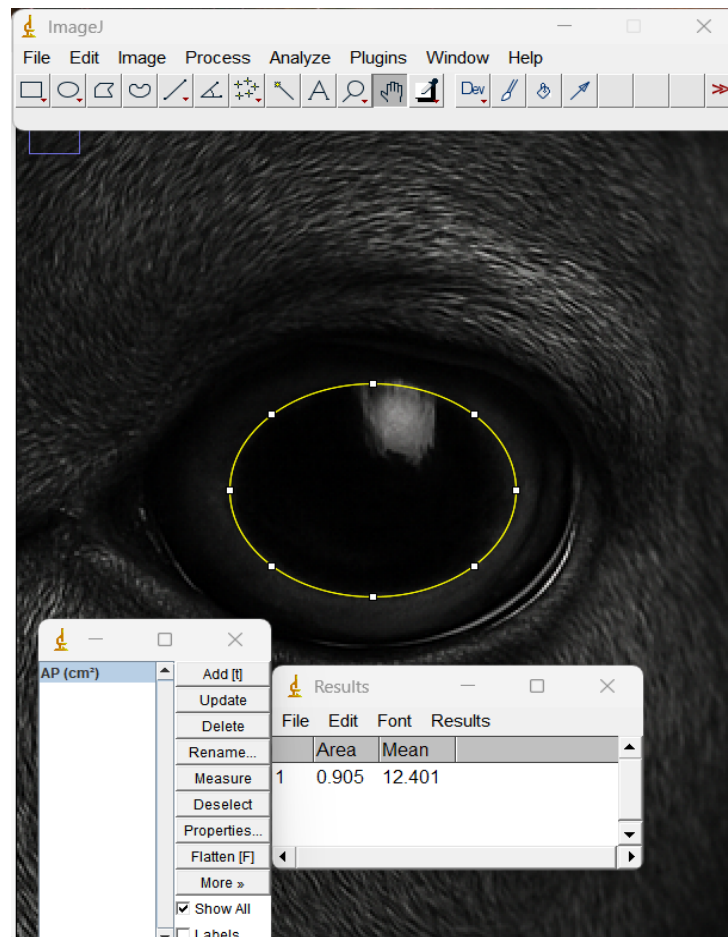
metálicas individuais, ortogonalmente aos animais, a aproximadamente 0,5 m do nível do piso e a uma distância horizontal de aproximadamente 0,40 m da região ocular da ovelha, permitindo a gravação contínua da área dos olhos. Embora a aquisição de vídeo tenha sido contínua, apenas as imagens obtidas durante a exposição aos tratamentos de temperatura controlada foram consideradas para análise. Imagens estáticas da pupila foram extraídas dessas gravações pelo software Intelbras SIM Play Monitoring. Uma escala de referência marcada em intervalos de 5 mm foi fixada nos animais para permitir a conversão das dimensões pupilares de pixels para milímetros. Uma pequena área da pelagem foi cuidadosamente aparada para facilitar a fixação de um papel milimétrico leve, que foi fixado com um adesivo atóxico de grau veterinário (Figura 5).



**Figura 5.** Exemplo de uma imagem ocular mostrando a escala de referência fixada no animal para converter as medidas em pixels em milímetros. **Fonte:** Araújo (2026).

Após o controle de qualidade, as imagens consideradas inadequadas foram excluídas da análise. Foi utilizada uma única imagem por animal por hora por dia,

totalizando 1152 imagens pupilares. Este total corresponde a 6 cordeiros fêmeas x 8 h x 8 dias x 3 tratamentos. As imagens foram convertidas para escala de cinza de 8 bits, preservando a textura e o contraste originais, e o fundo foi substituído por preto sólido (RGB: 0, 0, 0) para isolar a região ocular. Todos os procedimentos de edição foram realizados no GIMP 2.10 (versão 2.10; GIMP Development Team, EUA). As proporções originais da imagem foram preservadas sem distorção geométrica. A área pupilar (AP) (mm<sup>2</sup>) foi quantificada usando o ImageJ (versão 1.53; National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA). A escala de referência foi definida inicialmente com a ferramenta de linha com base na contagem de pixels. O contorno da pupila foi então traçado manualmente usando a ferramenta de polígono (Figura 6).



**Figura 6.** Procedimento utilizado para a medição da área pupilar em ovelhas: delineamento manual da pupila, com a área pupilar inicialmente obtida em cm<sup>2</sup> e posteriormente convertida para mm<sup>2</sup>. **Fonte:** Araújo (2026).

#### 4.4. Registros fisiológicos e coleta de sangue

A frequência respiratória (respirações/min) foi determinada a partir dos movimentos dos flancos observados pelo mesmo sistema de monitoramento por vídeo. A frequência cardíaca (batimentos/min) foi registrada continuamente usando um sensor de frequência cardíaca sem fio com cinta torácica (XOSS X2, XOSS, China) fixado nas ovelhas e conectado a um microcontrolador para aquisição de dados em tempo real. Ambas as variáveis foram registradas a cada hora durante cada tratamento de temperatura. Às 16h de todos os dias destinados a coleta de dados, os animais foram brevemente contidos para coleta de sangue.

Aproximadamente 10 mL de sangue foram coletados por venopunção jugular usando agulhas estéreis 18G (40 × 12 mm, BD) e seringas de 10 mL. O sangue foi imediatamente inserido em tubos EDTA-K<sub>3</sub> (4 mL, 13 × 75 mm) para análise de hemoglobina em sangue total e em tubos com ativador de coágulo e gel separador (4 mL, 13 × 75 mm) para análises de glicose sérica e hormonais (Figura 7). Os tubos com ativador de coágulo foram mantidos na posição vertical por 30 minutos a 22 °C e centrifugados a 1000 × g por 10 minutos a 4 °C. O soro foi transferido para microtubos estéreis de 1,5 mL e armazenado a -20 °C até a análise. As amostras com EDTA foram refrigeradas e analisadas no mesmo dia.



**Figura 7.** Processamento de amostras coletadas durante a fase experimental para fins de determinação dos indicadores fisiológicos de estresse térmico. **Fonte:** Dados da pesquisa.

A concentração de hemoglobina foi determinada no sangue total utilizando um analisador hematológico veterinário automatizado (Hematoclin 2.8 Vet, Bioclin, Brasil), baseado em impedância elétrica (princípio de Coulter) e detecção fotométrica. A glicose foi quantificada em amostras de soro por colorimetria enzimática (Trinder, 1969). e a atividade da creatina quinase por um método cinético UV proporcional à redução de NADP<sup>+</sup> utilizando um analisador bioquímico automatizado (Bioclin 2000 Plus, Bioclin, Brasil). Cortisol, T3 e T4 foram determinados em todas as amostras de soro coletadas por imunoensaio quimioluminescente (Immulite 1000, Siemens Healthineers, Alemanha) (Weeks; Sturgess; Woodhead, 1986).

#### 4.6 Análises estatísticas

A distribuição normal dos dados foi confirmada por meio do teste de Shapiro-Wilk, partindo do princípio de que, quando  $P > 0,05$ , os dados apresentavam distribuição normal. Os dados foram analisados utilizando modelos lineares de efeitos mistos ajustados com o procedimento PROC MIXED no SAS OnDemand for Academics (SAS Institute Inc., 2026). O modelo estatístico incluiu o tratamento, o dia da coleta e sua interação como efeitos fixos, enquanto o animal foi considerado um efeito aleatório (equação 1). As medições repetidas ao longo do tempo (dia) foram modeladas como observações repetidas no animal utilizando uma estrutura de covariância autorregressiva de primeira ordem [AR(1)], selecionada com base no Critério de Informação de Akaike (Burnham; Anderson, 1998; Kenward; Roger, 1997). Dado o tamanho da amostra, o ajuste de Kenward–Roger foi aplicado para calcular os graus de liberdade do denominador, a fim de garantir um teste de hipóteses robusto (Kenward–Roger, 1997). Quando efeitos significativos foram detectados, comparações pareadas entre as médias dos tratamentos foram realizadas utilizando o ajuste de Tukey para comparações múltiplas. Os dados são apresentados como médias  $LS \pm SEM$  e foram considerados significativamente diferentes quando  $P \leq 0,05$  e como tendências quando  $0,05 < P \leq 0,1$ .

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + D_j + (TD)_{ij} + A_k + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

Onde:  $Y_{ijk}$  é a variável dependente observada no  $i$ -ésimo tratamento, no  $j$ -ésimo dia e no  $k$ -ésimo animal;  $\mu$  é a média geral;  $T_i$  é o efeito fixo do tratamento ( $i = 1,2,3$ );  $D_j$  é o efeito fixo do dia da coleta ( $j = 1,\dots,8$ );  $TD_{ij}$  é o efeito de interação entre o tratamento e o dia da coleta;  $A_k$  é o efeito aleatório do animal ( $k = 1,\dots,6$ ); e  $\epsilon_{iik}$  é o erro residual aleatório.

As associações entre as variáveis foram avaliadas utilizando os coeficientes de correlação de Pearson ( $P < 0,05$ ). A força da correlação foi interpretada como muito forte ( $|r| = 0,90-1,00$ ), forte ( $0,70-0,89$ ), moderada ( $0,40-0,69$ ), fraca ( $0,20-0,39$ ) e insignificante ( $0,00-0,19$ ) (Schober; Boer; Schwarte, 2018). Além disso, foram gerados gráficos raincloud plots elaborados para visualizar as respostas pupilares. A temperatura foi especificada como fator de agrupamento e a área pupilar foi incluída como covariável.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições térmicas avaliadas afetaram significativamente as medidas pupilares em ovelhas (Tabela 2). Observou-se que a área pupilar aumentou progressivamente com a temperatura ambiente ( $P < 0,001$ ), chegando a 8,74 mm<sup>2</sup> (11,3%) entre 26 °C e 29 °C, 7,31 mm<sup>2</sup> (8,47%) entre 29 °C e 34 °C e 16,05 mm<sup>2</sup> (~20%) no geral entre 26 °C e 34 °C. Não foram detectados efeitos significativos do tempo ou interação entre tratamento e tempo (dia da coleta) no presente estudo. Como esperado, as condições térmicas influenciaram significativamente as respostas termorregulatórias tradicionalmente utilizadas, as quais apresentaram padrão semelhante ao observado para a área pupilar em ovelhas. Por outro lado, nem o efeito do tempo nem a interação entre tratamento e tempo (dia de coleta) foram significativos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Respostas pupilares e termorregulatórias das ovelhas

Item	Médias das temperaturas			P		
	26°C	29 °C	34°C	(T)	(D)	T x D
AP (mm <sup>2</sup> )	77,55 <sup>c</sup>	86,29 <sup>b</sup>	93,60 <sup>a</sup>	< 0,001	0,427	0,680
EPM	1,00	1,51	0,83			
FR (mrm)	26,00 <sup>c</sup>	34,00 <sup>b</sup>	60,00 <sup>a</sup>	< 0,001	0,334	0,510
EPM	1,11	1,52	2,40			
FC (bpm)	69,00 <sup>c</sup>	76,00 <sup>b</sup>	82,00 <sup>a</sup>	< 0,001	0,271	0,488
EPM	1,97	1,45	1,79			
Hemoglobina (g/dL)	8,75	10,21	11,02	0,218	0,742	0,810
EPM	0,65	0,87	1,06			
Glicose (mg/dL)	58,21 <sup>a</sup>	57,83 <sup>a</sup>	51,90 <sup>b</sup>	0,043	0,225	0,400
EPM	2,16	3,42	2,56			
CK (U/L)	176,20	190,08	197,00	0,556	0,690	0,773
EPM	5,23	17,33	14,86			
Cortisol (ng/mL)	13,66 <sup>b</sup>	18,36 <sup>ab</sup>	22,67 <sup>a</sup>	0,012	0,318	0,440
EPM	0,67	2,20	2,18			
T3 (ng/mL)	109,73	105,37	96,47	0,810	0,853	0,900
EPM	9,02	14,57	19,14			
T4 (ng/mL)	66,80	61,57	52,34	0,482	0,580	0,724
EPM	5,54	8,88	10,31			

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Notas: T: tratamento, D: dia, AP: área pupilar, FR: frequência respiratória, FC: frequência cardíaca, CK: creatina quinase, T3: triiodotironina total, T4: tiroxina total. EPM = erro padrão da média.

Em relação a frequência respiratória e a frequência cardíaca, observa-se que ambas aumentaram ( $P < 0,001$ ; Tabela 2) à medida que a temperatura do ar excedeu a zona de conforto térmico para ovelhas (ou seja,  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Um aumento significativo foi observado a  $34\text{ }^{\circ}\text{C}$  na frequência respiratória e cardíaca, correspondendo a aumentos de 76,5% e 7,9%, respectivamente, em relação aos registrados a  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Entre as variáveis metabólicas, alterações significativas foram observadas apenas a  $34\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As concentrações de cortisol aumentaram nessa temperatura ( $P = 0,01$ ), enquanto as concentrações de glicose tenderam a diminuir ( $P = 0,09$ ). Nenhuma das variáveis apresentou diferença entre  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O tratamento não afetou a concentração de hemoglobina nem a atividade da creatina quinase. Da mesma forma, os hormônios tireoidianos (T3 e T4) permaneceram inalterados em todas as temperaturas. Não foram detectados efeitos significativos do tempo nem interação entre tratamento e tempo nas variáveis metabólicas e endócrinas.

À medida que a temperatura do ar aumentou de  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$  para  $34\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a área pupilar expandiu-se em mais de 20%, o que foi associado a aumentos concomitantes na frequência respiratória, frequência cardíaca, e concentrações de cortisol. No geral, esses resultados ampliam achados anteriores em cabras (Marques et al., 2018) para ovelhas. De forma consistente, Wild et al. (2023) demonstraram que a pupilometria pode detectar a modulação do estresse em cavalos submetidos à massagem esportiva (tratamento). Os autores constataram que a área pupilar normalizada diminuiu em aproximadamente 26%, enquanto o grupo controle apresentou um aumento não significativo de cerca de 14%. Portanto, a pupilometria parece ser uma ferramenta promissora e útil para auxiliar na tomada de decisões, abrindo novas avenidas para futuras pesquisas que testem seu potencial preditivo em estudos de longo prazo e em condições de campo, incluindo a área da pupila como um marcador confiável do estado fisiológico de animais em ambientes de estresse térmico.

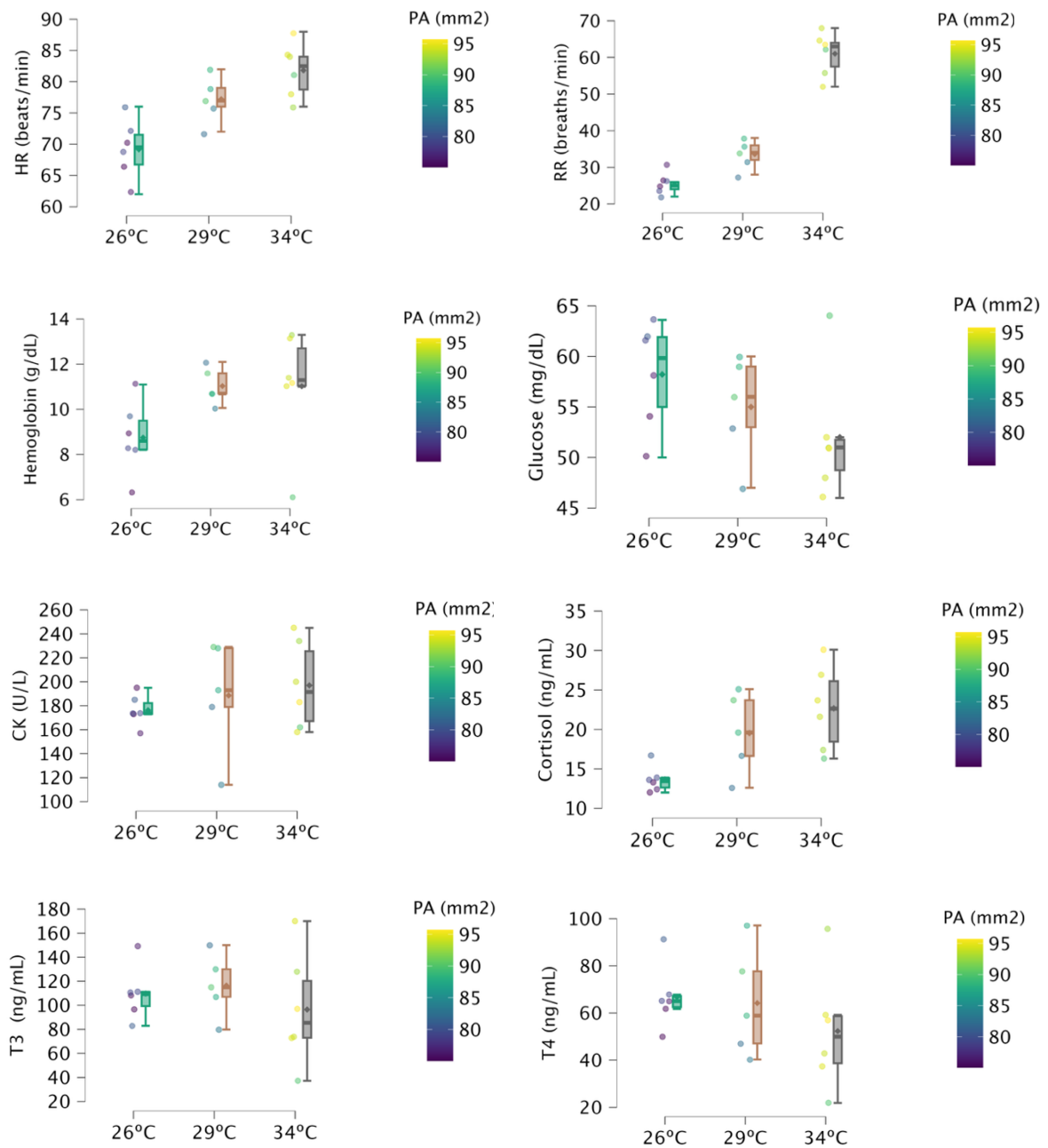
Neste estudo, observaram-se fortes correlações positivas entre a maioria das respostas pupilares e termorregulatórias (Tabela 3). A área pupilar apresentou fortes correlações positivas com a frequência respiratória ( $r = 0,88$ ;  $P < 0,001$ ) e a frequência cardíaca ( $r = 0,87$ ;  $P < 0,001$ ). Não foi detectada nenhuma relação significativa entre as respostas pupilares e os hormônios tireoidianos, a atividade da creatina quinase ou a concentração de glicose.

**Tabela 3.** Coeficientes de correlação de Pearson entre as respostas pupilares e termorregulatórias das ovelhas.

Variável	AP	FR	FC	Hb	Glicose	CK	Cortisol	T3	T4
AP	-								
FR	0,88 <sup>***</sup>	-							
FC	0,87 <sup>***</sup>	0,76 <sup>***</sup>	-						
Hb	0,54 <sup>*</sup>	0,34 <sup>ns</sup>	0,25 <sup>ns</sup>	-					
Glicose	-0,34 <sup>ns</sup>	-0,41 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>ns</sup>	-0,60 <sup>***</sup>	-				
CK	0,40 <sup>ns</sup>	0,29 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	-			
Cortisol	0,84 <sup>***</sup>	0,66 <sup>***</sup>	0,79 <sup>**</sup>	0,53 <sup>**</sup>	-0,368 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>*</sup>	-		
T3	-0,12 <sup>ns</sup>	-0,12 <sup>ns</sup>	-0,35 <sup>ns</sup>	0,65 <sup>***</sup>	-0,235 <sup>ns</sup>	-0,24 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	-	
T4	-0,10 <sup>ns</sup>	-0,21 <sup>ns</sup>	-0,16 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	0,171 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	-

\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001; ns: não significativo. Nota: AP: área pupila, FR: frequência respiratória, FC: frequência cardíaca, Hb: hemoglobina, T3: triiodotironina total, T4: tiroxina total.

A base fisiológica dessa resposta é a ativação do sistema nervoso autônomo, que está ligado à maioria dos mecanismos envolvidos na termorregulação. O reflexo pupilar, que regula a constrição e a dilatação da pupila em resposta a estímulos, reflete o equilíbrio funcional entre os ramos simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo (Piaggio et al., 2021). Estudos experimentais demonstraram que as alterações no diâmetro da pupila estão intimamente ligadas à excitação simpática e às respostas ao estresse emocional ou fisiológico em diversas espécies de mamíferos (Kuraoka; Nakamura, 2022; Wild et al., 2023) Portanto, o tamanho da pupila é regulado pela ação antagônica do esfíncter da íris e dos músculos dilatadores, que são controlados pelas vias parassimpáticas e simpáticas. Em condições de estresse, a ativação simpática estimula o músculo dilatador da pupila, produzindo midríase (Lempert; Chen; Fleming, 2015). Assim, as respostas pupilares estiveram fortemente associadas à frequência respiratória, à frequência cardíaca e ao cortisol, corroborando a hipótese de que a dilatação pupilar reflete a ativação autonômica durante o estresse térmico. Os gráficos Raincloud Plots (Figura 8) reforçam ainda mais esse padrão, ilustrando que a dilatação pupilar acompanha a progressão das respostas termorregulatórias.



**Figura 8.** Gráficos Raincloud Plots da área pupilar (AP) e as respostas termorregulatórias de ovelhas. **Fonte:** Dados da pesquisa.

Esses resultados podem ser explicados pelo fato de que, sob carga térmica ambiental crescente, os mecanismos termorregulatórios limitam o armazenamento de calor corporal, aumentando a dissipação de calor por meio de ajustes respiratórios (ou

seja, ofegantes) e cardiovasculares que promovem a vasodilatação periférica (Fonsêca et al., 2019). Esses processos facilitam a transferência de calor do núcleo do corpo para os tecidos periféricos, onde ele pode ser dissipado para o ambiente, e são acompanhados por adaptações comportamentais (Mitchell et al., 2025). Portanto, os aumentos observados nas frequências respiratória e cardíaca neste estudo são consistentes com a ativação da perda de calor por evaporação e a redistribuição de calor por meio do aumento do fluxo sanguíneo periférico, indicando um maior esforço fisiológico para manter o equilíbrio térmico. Além disso, o aumento nas concentrações séricas de cortisol documentado no presente estudo sugere uma atividade adrenocortical aumentada, uma resposta tipicamente associada à ativação do sistema nervoso autônomo em condições de estresse, neste caso, principalmente induzida pelo estresse térmico (Stubsj en et al., 2015).

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações devem ser consideradas. O experimento foi conduzido sob condi es ambientais controladas, que não reproduzem integralmente a complexidade dos sistemas de produ o em campo, nos quais fatores como radia o solar, umidade e velocidade do vento interagem dinamicamente, influenciando a troca de calor. De fato, esses fatores individuais, bem como suas intera es, exercem impacto significativo, tornando a dinâmica das respostas mais complexa e, conseqüentemente, as medi es mais desafiadoras (Zhang et al., 2025). Além disso, o tamanho da pupila pode ser modulado por múltiplos fatores não relacionados ao estresse térmico, como a intensidade luminosa, o estado emocional e a excita o comportamental (Lempert; Chen; Fleming, 2015). Outro ponto relevante refere-se às características da pupila em ovinos, que geralmente apresenta formato geométrico mais próximo de um retângulo. No entanto, por razões fisiológicas e em fun o dos fatores anteriormente mencionados, como a varia o na intensidade luminosa, esse formato pode sofrer altera es. Observou-se, portanto, uma ampla variabilidade nas formas pupilares, o que pode dificultar, em certo grau, a aplica o de métodos automatizados de análise. Estudos futuros devem avaliar as respostas pupilares em condi es reais de produ o, bem como incorporar técnicas automatizadas de análise de imagem e abordagens estatísticas robustas capazes de discriminar as altera es pupilares associadas ao estresse térmico de outras fontes de varia o.

## **6. CONCLUSÃO**

A dilatação pupilar responde de forma consistente ao estresse térmico em ovelhas, acompanhando aumentos respiratórios, cardíacos e de cortisol, indicando o potencial da pupilometria como ferramenta não invasiva para a avaliação do estresse térmico. No entanto, a pupilometria ainda não se configura como um indicador independente em condições de campo. Recomenda-se mais pesquisas para que possa ser utilizada em sistemas comerciais de produção ovina.

## REFERÊNCIAS

ABDULAI, Gabriel; SAMA, Michael; JACKSON, Joshua. A preliminary study of the physiological and behavioral response of beef cattle to unmanned aerial vehicles (UAVs). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 241, 1 ago. 2021.

ALONSO, M. E *et al.* Consumers' Concerns about Animal Welfare and Their Influence on Shopping Behavior: The Case of the Spanish Beef Market. **Animals**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. 590, 2020.

ARFUSO, Francesca *et al.* Eye surface infrared thermography usefulness as a noninvasive method of measuring stress response in sheep during shearing: Correlations with serum cortisol and rectal temperature values. **Physiology and Behavior**, v. 250, 1 jun. 2022.

ARAÚJO, Maria Gabriela Marceneiro. **Variações da área pupilar de ovelhas em resposta ao estresse térmico sob condições ambientais controladas**. 2026. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2026.

BANKS, Martin S. *et al.* Why do animal eyes have pupils of different shapes? **Science Advances**, v. 1, n. 7, 1 ago. 2015.

BARRETO, Camilla Diniz *et al.* Infrared thermography for evaluation of the environmental thermal comfort for livestock. **International Journal of Biometeorology**, v. 64, n. 5, p. 881–888, 1 mai. 2020.

BROOM, D. M. Animal welfare concepts and least suffering. **Small Ruminant Research**, [S. l.], v. 181, p. 15-21, 2019.

BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v. 142, n. 6, p. 524-526, nov./dez. 1986.

BULLER, H. *et al.* Animal welfare as a benchmark of sustainable food security. **Animal Welfare**, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 111-126, 2020.

BURNHAM, Kenneth P.; ANDERSON, David R. **Model Selection and Inference**. New York, NY: Springer New York, 1998.

CARVAJAL, Mario A. *et al.* Increasing importance of heat stress for cattle farming under future global climate scenarios. **Science of the Total Environment**, v. 801, 20 dez. 2021.

COUNCIL, National Research. **Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids**. Washington, DC: The National Academies Press, 2007.

DA SILVA, Roberto Gomes; MAIA, Alex Sandro Campos. **Principles of Animal Biometeorology**. Springer ed. [S.l.]: Springer, 2013. v. 2

DAWKINS, MS. Using behaviour to assess animal welfare. **Animal Welfare**, v. 13, n. S1, p. S3–S7, 11 fev. 2004.

DE CASTRO JÚNIOR, Sérgio Luis; SILVA, Iran José Oliveira da. **The specific enthalpy of air as an indicator of heat stress in livestock animals**. **International Journal of Biometeorology** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 fev. 2021.

DE FRANÇA CARVALHO FONSÊCA, Vinicius *et al.* Bio-thermal responses and heat balance of a hair coat sheep breed raised under an equatorial semi-arid environment. **Journal of Thermal Biology**, v. 84, p. 83–91, 1 ago. 2019.

DE OLIVEIRA APARECIDO, Lucas Eduardo *et al.* Climate classification by Thornthwaite (1948) humidity index in future scenarios for Maranhão State, Brazil. **Environment, Development and Sustainability**, v. 25, n. 1, p. 855–878, 1 jan. 2023.

EUSTÁQUIO FILHO, Antônio *et al.* Zona de conforto térmico de ovinos da raça Santa Inês com base nas respostas fisiológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1807–1814, 2011.

GOMES, Antonia Mara Nascimento *et al.* Assessment of Land Degradation in the State of Maranhão to Support Sustainable Development Goal 15.3.1 in the Agricultural Frontier of MATOPIBA, Brazil. **ISPRS International Journal of Geo-Information**, v. 14, n. 9, 1 set. 2025.

HOFFMANN, Gundula *et al.* **Animal-related, non-invasive indicators for determining heat stress in dairy cows.** **Biosystems Engineering** Academic Press, , 1 nov. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agropecuária (Ovinos) 2023.** Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br>. Acesso em: 22 abr. 2026.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa da Pecuária Municipal 2024.** Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br>. Acesso em: 22 abr. 2026.

JONGBO, Ayoola Olawole *et al.* Heat stress in livestock under tropical climates: impacts and mitigation strategies. **Tropical Animal Health and Production**, v. 58, n. 2, p. 65, 27 mar. 2026.

KEELING, Linda *et al.* Animal Welfare and the United Nations Sustainable Development Goals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 1-12, 10 out. 2019.

KENWARD, Michael G.; ROGER, James H. Small Sample Inference for Fixed Effects from Restricted Maximum Likelihood. **Biometrics**, v. 53, n. 3, p. 983, set. 1997.

KURAOKA, Koji; NAKAMURA, Kae. **Facial temperature and pupil size as indicators of internal state in primates.** **Neuroscience Research** Elsevier Ireland Ltd, , 1 fev. 2022.

LEITE, Rodrigo Formiga *et al.* Principles and cautions in the infrared thermography application in sheep. **Multidisciplinary Reviews**, v. 5, n. 1, p. 1–5, 2022.

LEMPERT, Karolina M.; CHEN, Yu Lin; FLEMING, Stephen M. Relating pupil dilation and metacognitive confidence during auditory decision-making. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, 7 maio 2015.

LIANG, Jinxin *et al.* Application of non-invasive monitoring technology in intensive sheep farming: A review. **Smart Agricultural Technology**, v. 12, p. 101215, dez. 2025.

LIN, Annie *et al.* The Utility of Iris-pupillary Area Ratio as a Non-invasive Index of Stress in Primates. **Biology, Engineering, Medicine and Science Reports**, v. 4, n. 1, p. 20–22, 15 jul. 2018.

MACHADO, Nítalo André farias *et al.* Biological rhythm of goats and sheep in response to heat stress. **Biological Rhythm Research**, v. 51, n. 7, p. 1044–1052, 2 out. 2020.

MACHADO, Nítalo A. F. *et al.* Use of pupillometry in the diagnosis of stress in piglets transported in a tropical climate. **Engenharia Agricola**, v. 41, n. 4, p. 402–408, 1 jul. 2021.

MAGNIN, Mathieu *et al.* Infrared pupillometry to measure pupil light reflex in awake cats: Feasibility and evaluation pre- and post-opioid administration. **Research in Veterinary Science**, v. 198, 1 jan. 2026.

MAIA, A. S. C.; DA SILVA, R. G.; BATTISTON LOUREIRO, C. M. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **International Journal of Biometeorology**, v. 50, n. 1, p. 17–22, 2005.

MAIA, Alex S. C. *et al.* Thermal equilibrium of goats. **Journal of Thermal Biology**, v. 58, p. 43–49, 1 maio 2016.

MARAI, I. F. M. *et al.* **Physiological traits as affected by heat stress in sheep-A review. Small Ruminant Research**, ago. 2007.

MARQUES, Jordânio Inácio *et al.* Pupillary dilation as a thermal stress indicator in boer crossbred goats maintained in a climate chamber. **Small Ruminant Research**, v. 158, p. 26–29, 1 jan. 2018.

MASCARENHAS, Nágela Maria Henrique *et al.* Thermal stress index for native sheep. **Journal of Thermal Biology**, v. 115, 1 jul. 2023.

MCLENNAN, K. M. Positive welfare in sheep: A review of the evidence. **Applied Animal Behaviour Science**, [S. l.], v. 256, p. 105748, 2022.

MCLENNAN, Krista M. *et al.* Development of a facial expression scale using footrot and mastitis as models of pain in sheep. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 176, p. 19–26, 1 mar. 2016.

MCMANUS, Concepta *et al.* Heat tolerance in Brazilian sheep: Physiological and blood parameters. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, n. 1, p. 95–101, 9 jan. 2009.

MCMANUS, Concepta *et al.* Infrared thermography in animal production: An overview. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 123, p. 10–16, abr. 2016.

MELLOR, David J. Operational Details of the Five Domains Model and Its Key Applications to the Assessment and Management of Animal Welfare. **Animals**, v. 7, n. 8, p. 1-20, 9 ago. 2017.

MELLOR, D.J.; REID, C.S.W. **Concepts of an imal well-being and predicting the impact of procedures on experimental animals**. 1994. Disponível em: <<http://org.uib.no/dyreavd/harm-benefit/Concepts%20of%20animal%20well-being%20and%20predicting.pdf>>. Acesso em: 08 mai. 2026.

MITCHELL, Duncan *et al.* Revisiting concepts of thermal physiology: understanding negative feedback and set-point in mammals, birds, and lizards. **Biological Reviews**, v. 100, n. 3, p. 1317–1346, 1 jun. 2025.

MOTA-ROJAS, Daniel *et al.* Neonatal infrared thermography images in the hypothermic ruminant model: Anatomical-morphological-physiological aspects and mechanisms for thermoregulation. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 4 ago. 2022.

MOTA-ROJAS, Daniel *et al.* **Thermal Imaging as a Method to Indirectly Assess Peripheral Vascular Integrity and Tissue Viability in Veterinary Medicine: Animal**

**Models and Clinical Applications. Animals.** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jan. 2024.

NETO, Gerardo Aurélio Cruz *et al.* Infrared thermography as a non-invasive method to quantify the heat stress response in weaned piglets after road transport in a semi-arid region. **International Journal of Biometeorology**, v. 69, n. 3, p. 633–642, 1 mar. 2025.

NIELSEN, Søren Saxmose *et al.* Welfare of domestic birds and rabbits transported in containers. **EFSA Journal**, v. 20, n. 9, p. e07441, 1 set. 2022.

OIE (World Org. for Animal H). 2013. **Terrestrial Animal Health Code**. Disponível em: <[http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre\\_aw\\_introduction.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_aw_introduction.htm)>. Acesso em: 09 mai. 2026.

OLIVEIRA, Caroline Carvalho de *et al.* Daytime ingestive behaviour of grazing heifers under tropical silvopastoral systems: Responses to shade and grazing management. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 240, n. May, 2021.

OYIENG, E. *et al.* The impact of heat stress on growth and resilience phenotypes of sheep raised in a semi-arid environment of sub-Saharan Africa. **Livestock Science**, v. 301, p. 105794, 1 nov. 2025.

PARENTE, M. O. M. *et al.* Effects of the dietary inclusion of babassu oil or buriti oil on lamb performance, meat quality and fatty acid composition. **Meat Science**, v. 160, n. October 2019, p. 107971, 2020.

PIAGGIO, D. *et al.* Pupillometry via smartphone for low-resource settings. **Biocybernetics and Biomedical Engineering**, v. 41, n. 3, p. 891–902, 1 jul. 2021.

POLIZEL, S. P. *et al.* Analysing the dynamics of land use in the context of current conservation policies and land tenure in the Cerrado – MATOPIBA region (Brazil). **Land Use Policy**, v. 109, 1 out. 2021.

RASHAMOL, Veettiparambil Pandarathil *et al.* Physiological adaptability of livestock to heat stress: an updated review. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 6, n. 3, p. 62–71, 2018.

RODRIGUES, F. C. *et al.* Deep learning for detecting dilated or contracted pupils. **Biomedical Signal Processing and Control**, v. 94, 1 ago. 2024.

SAS INSTITUTE INC. **SAS OnDemand for Academics**. Cary, NC, USASAS Institute Inc., , 2026. Disponível em: <<https://welcome.oda.sas.com>>. Acesso em: 3 fev. 2026.

SCHOBBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. **Anesthesia & Analgesia**, v. 126, n. 5, p. 1763–1768, maio 2018.

SCHRAM, Patricia; MOYA, Carla Fredrichsen. Bem-estar animal na ovinocultura no Brasil: Revisão. **Pubvet**, v. 17, n. 01, 3 fev. 2023.

SEJIAN, Veerasamy *et al.* Heat stress and livestock production: Impact and adaptation. **Small Ruminant Research**, v. 199, 1 jun. 2021.

SEJIAN, Veerasamy *et al.* **Non-Invasive Methods of Quantifying Heat Stress Response in Farm Animals with Special Reference to Dairy Cattle**. **AtmosphereMDPI**, , 1 out. 2022.

SILVA, Marcos Vinícius da *et al.* Vaginal temperature modeling in Holstein cows and cluster analysis by the cophenetic correlation coefficient. **Journal of Thermal Biology**, v. 115, 1 jul. 2023.

SOLYMAN, Omar *et al.* Pilot Study of Smartphone Infrared Pupillography and Pupillometry. **Clinical Ophthalmology**, v. 16, p. 303–310, 2022b.

SOUSA, Andressa Carvalho de *et al.* Bioclimatic Zoning and Climate Change Impacts on Dairy Cattle in Maranhão, Brazil. **Animals**, v. 15, n. 11, 1 jun. 2025.

STAUDT, Daniela *et al.* PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE OVINOS NO BRASIL. **Revista Políticas Públicas & Cidades**, v. 14, n. 1, p. e1389, 3 fev. 2025.

STUBSJØEN, Solveig M. *et al.* Assessment of chronic stress in sheep (part I): The use of cortisol and cortisone in hair as non-invasive biological markers. **Small Ruminant Research**, v. 132, p. 25–31, 1 nov. 2015.

TANG, Chen Hui *et al.* Virtual Reality-Based Infrared Pupillometry (VIP) for Long-COVID. **Ophthalmology**, v. 132, n. 5, p. 538–549, 1 maio 2025.

THORNTON, Philip *et al.* Impacts of heat stress on global cattle production during the 21st century: a modelling study. **The Lancet Planetary Health**, v. 6, n. 3, p. e192–e201, 1 mar. 2022.

TRINDER, P. Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. **Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine**, v. 6, n. 1, p. 24–27, 1 jan. 1969.

VAN WETTERE, William H. E. J. *et al.* **Review of the impact of heat stress on reproductive performance of sheep.** **Journal of Animal Science and Biotechnology** BioMed Central Ltd, , 1 dez. 2021.

VAN WETTERE, William H. E. J. *et al.* Heat stress from current and predicted increases in temperature impairs lambing rates and birth weights in the Australian sheep flock. **Nature Food**, v. 5, n. 3, p. 206–210, 1 mar. 2024.

VIGNE, Jean-Denis. The origins of animal domestication and husbandry: A major change in the history of humanity and the biosphere. **Comptes Rendus. Biologies**, v. 334, n. 3, p. 171–181, 2 fev. 2011.

VILELA, Luciana Cristine Vasques. **Origem e situação dos ovinos no Brasil.** Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/ovinos-de-corte/pre-producao/caracteristicas/racas/origem-e-situacao-dos-ovinos-no-brasil>>. Acesso em: 15 abr. 2026.

WEEKS, Ian; STURGESS, Maria L.; WOODHEAD, J. Stuart. Chemiluminescence immunoassay: an overview. **Clinical Science**, v. 70, n. 5, p. 403–408, 1 maio 1986.

WILD, Karen Nicola *et al.* Pupillometry to show stress release during equine sports massage therapy. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2023.

ZHANG, Yadan *et al.* High-Performance Automated Detection of Sheep Binocular Eye Temperatures and Their Correlation with Rectal Temperature. **Animals**, v. 15, n. 17, 1 set. 2025.