UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

LUCIANA MULERO BELOTO

Taxa de *Turnover* e fator de discriminação isotópico entre o sangue e a dieta do Lagarto Teiú (*Salvator merianae*)

Piracicaba
2018

LUCIANA MULERO BELOTO

Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre o sangue e a dieta do lagarto teiú (*Salvator merianae*)

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Plínio Barbosa de Camargo

Piracicaba

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Beloto, Luciana Mulero
Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre o sangue e a dieta do lagarto teiú (*Salvator merianae*), município de Piracicaba, São Paulo / Luciana Mulero Beloto; orientador Plínio Barbosa de Camargo. - - Piracicaba, 2018.
123 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Dieta animal 2. Metabolismo animal 3. Nutrição animal 4. Razão isotópica I. Título.

CDU 621.039.332 : 591.53

DEDICATÓRIA

À minha família, com amor, admiração e gratidão por sua compreensão, pelo tempo dedicado por minha pessoa a elaboração desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Plínio Barbosa de Camargo e ao principal colaborador Prof. Dr. Marcelo Zacharias Moreira pelas oportunidades, confiança e pela transmissão de conhecimentos e experiências que poderão perpetuar ao longo da minha carreira acadêmica.

Ao meu esposo Altair Heitor Beloto e minha filha Luana Beloto Caldari pelo amor, compreensão e contribuição ao longo do desenvolvimento da minha caminhada na elaboração desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Augusto Shinya Abe pela colaboração de seus conhecimentos primordiais e o fornecimento dos animais para a elaboração experimental da dissertação. A Dra. Marina Sartori pela dedicação e a contribuição de seus conhecimentos fisiológicos importantíssimos. Aos garotos Fernando e Ayrton pela ajuda na manipulação e contenção dos animais em todas as coletas do protocolo experimental.

Ao Laboratório de Ecologia Isotópico (CENA/USP) representado pelos professores doutores Luiz Antonio Martinelli, Marcelo Zacharias Moreira, Plínio Barbosa de Camargo, pelos técnicos Edmar Antonio Mazzi, Fabiana Cristina Fracassi Adorno, Geraldo de Arruda Junior e Maria Antonia Zambetta Perez pela ajuda com as análises isotópicas e aos alunos, alunas e estagiários pelo excelente convívio.

Ao Prof. Dr. Thiago Simon Marques e o Mestre Neliton Ricardo Freitas Lara pela compreensão, amizade e conhecimentos compartilhados que beneficiaram o desenvolvimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa PROEX – 0487 do Programa de Excelência Acadêmica.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura e ao Programa de Pós-Graduação Ciências pela oportunidade, qualidade e excelência acadêmica.

À demais pessoas que me auxiliaram no desenvolvimento da dissertação.

RESUMO

Beloto, L. M. **Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre o sangue a dieta do lagarto teiú (*Salvator merianae*).** 2018. 123 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

O lagarto teiú *Salvator merianae* pertence à família TEIIDAE, são animais forrageadores ativos e alimentam-se principalmente de insetos quando filhotes, e onívoros quando jovens e adultos. Na região sudeste do Brasil *S. merianae* apresenta um ciclo anual de atividade durante o verão e inatividade durante o inverno, assim, estudar esse modelo de animal é de extrema importância, pois, se trata de uma espécie que obedece a um ciclo de ajustes fisiológicos distintos que podem influenciar a taxa de *turnover* e o fator de discriminação isotópico. Foram coletados dados de 26 indivíduos juvenis e 11 adultos. A $\delta^{13}C$ das células vermelhas inicial não apresentou diferença entre juvenis e adultos, no entanto para o plasma foram distintos. Essa diferença pode ter ocorrido porque a dieta ao longo de suas vidas não era homogênea. A $\delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma foram distintos entre os juvenis e adultos. A diferença encontrada pode ser atribuída a modelos de balanço nitrogenado distintos. Foi apontado a comparação entre os períodos de pré-dormência e despertar da dormência sazonal, a fim de verificar se a utilização das reservas endógenas poderia influenciar os dados iniciais. A $\delta^{13}C$ das células vermelhas dos juvenis e dos adultos não foram diferentes entre os períodos. Entretanto, a $\delta^{15}N$ dos juvenis foi distinto e similar para os adultos. O plasma se comportou de forma similar as células vermelhas para a $\delta^{13}C$ nos juvenis e adultos. Todavia o nitrogênio do plasma se anotou distintos, sendo o período de despertar enriquecido tanto para os juvenis como adultos. Desta forma, a espécie utilizou um misto da reserva lipídica e aminoácidos endógenos na produção de energia diante de uma taxa metabólica muito baixa. As taxas de turnover das células vermelhas para ^{13}C e ^{15}N dos juvenis e dos adultos foram 79,57 e 34,88 dias e 66,84 e 43,38 dias respectivamente, porém o plasma foi mais rápido sendo, 41,64 e 20,83 dias e 38,77 e 22,78 dias respectivamente. Os valores de $\Delta^{13}C$ das células vermelhas dos juvenis e dos adultos 1,43‰ e 1,25 ‰, e Δ13C do plasma apresentaram os valores de 2,10‰ e 1,87‰ na ordem. O do $\Delta^{15}N$ das células vermelhas dos juvenis e dos adultos foram 3,05‰ e 3,44‰, seguido dos valores de $\Delta^{15}N$ do plasma 3,93‰ e 4,34‰. Todos os valores não apontaram um padrão entre os táxons da literatura devido influências peculiares que podem ser intrínsecos entre as espécies. Houve uma correlação entre o índice de massa corpórea com o $\Delta^{13}C$ do plasma dos juvenis e com os $\Delta^{13}C$ das células

vermelhas e plasma e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas dos adultos. Essa correlação parece estar relacionada com uma possível intolerância aos carboidratos provenientes da dieta. No entanto o $\Delta^{15}N$ do plasma parece estra relacionado com a entrada de reserva endógena e o controle do catabolismo. Juvenis e adultos, machos e fêmeas mostraram semelhança em todas as comparações. Esse resultado era esperado porque no final do experimento os indivíduos juvenis se enquadravam em sub-adultos e a alocação para reprodução ter sua maior contribuição da fonte endógena.

Palavras-chave: 1. Dieta animal 2. Metabolismo animal 3. Nutrição animal 4. Razão isotópica

ABSTRACT

Beloto, L. M. **Rate of turnover and the isotopic discrimination factor between blood the diet of the tegu lizard (*Salvator merianae*).** 2018. 123 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

The tegu lizard *Salvator merianae* belongs to the TEIIDAE family. They are active foraging animals that feed mainly on insects when cubs, becoming omnivores when they reach youth and adulthood. In the Southeastern of Brazil, *S. merianae* presents an annual cycle of activity during the summer and inactivity during the winter. Thereupon, studying this animal is extremely important, since it's a species that obeys a cycle of physiological adjustments which may influence the turnover rate and the isotopic discrimination factor. Data were collected from 26 juveniles and 11 adults. The $\delta^{13}C$ of the red cells didn't present difference between juveniles and adults; however these values were different for plasma. This difference may have occurred because the diet throughout their lives was not homogeneous. The $\delta^{15}N$ of red cells and plasma were distinct between juveniles and adults. The difference found can be attributed to different nitrogen balance models. It was pointed out the comparison between the periods of pre-dormancy and awakening of the seasonal dormancy, in order to verify if the use of the endogenous reserves could influence the initial data. The $\delta^{13}C$ of the red cells of juveniles and adults was not different between periods. However, the $\delta^{15}N$ of juveniles was distinct and similar for adults. Plasma behaved similarly to red cells for $\delta^{13}C$ in juveniles and adults. Meanwhile, the nitrogen of plasma was distinct and the arousal period was enriched for both juveniles and adults. The species used a mixture of its own lipid reserves and endogenous amino acids for the energy production before a very low metabolic rate. Red cell turnover rates for ^{13}C and ^{15}N of juveniles and adults were 79.57 and 34.88 days and 66.84 and 43.38 days, respectively. Nonetheless, the plasma rate was faster as the values found were 41.64 and 20.83 days and 38.77 and 22.78 days. The $\Delta^{13}C$ values of red cells for juveniles and adults were 1.43‰ and 1.25‰, and the $\Delta^{13}C$ values of plasma were 2.10‰ and 1.87‰ respectively. The $\Delta^{15}N$ values of red cells for juveniles and adults were 3.05‰ and 3.44 ‰, followed by $\Delta^{15}N$ values of 3.93‰ and 4.34‰ for plasma. All values didn't indicate a pattern among the taxa due to peculiar influences that may be intrinsic among the species. There was a correlation between body mass index and $\Delta^{13}C$ values for juvenile plasma and $\Delta^{13}C$ of red cells and plasma, as well as $\Delta^{15}N$ values for red cells in adults. This correlation seems to be related to a possible

intolerance to dietary carbohydrates. However, the $\Delta^{15}N$ of plasma appears to be related to endogenous reserve inflow and catabolism control. Juveniles and adults, males and females showed similarity in all comparisons. This result was expected because at the end of the experiment juveniles could be classified as sub-adults and the allocation for reproduction had its greatest contribution from the endogenous source.

Keywords: 1. Diet's animal 2. Animal metabolism 3. Animal nutrition 4. Isotopic ratio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
1.1. Objetivos 17
1.1.1. Objetivos específicos 17
2. REVISÃO DA LITERATURA 18
2.1. Ajustes bioquímicos de *Salvator merianae* (Lagarto teiú) ao longo da dormência 18
2.2. Taxa de turnover e fator de discriminação isotópico 19
3. MATERIAL E MÉTODOS 22
3.1. Protocolo experimental 22
3.2. Forma de análise dos dados 24
4. RESULTADOS 26
4.1. Elaboração da nova dieta 26
4.2. Sazonalidade – Pré-dormência e despertar 29
4.3. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis de *Salvator merianae* 31
4.4. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis de *Salvator merianae* 50
4.5. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de adultos de *Salvator merianae* 67
4.6. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de adultos de *Salvator merianae* 82
4.7. Comparação na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre adultos e juvenis de *Salvator merianae* 99
4.8. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre fêmeas e machos de *Salvator merianae* 101
5. DISCUSSÕES 103
5.1. Elaboração da nova dieta 103
5.2. Sazonalidade – Pré-dormência e despertar 103
5.3. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis e adultos de *Salvator merianae* 105
5.4. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis e adultos de *Salvator merianae* 108
5.5. Comparação na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre adultos e juvenis de *Salvator merianae* 111
5.6. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre fêmeas e machos de *Salvator merianae* 112
6. CONCLUSÕES 114
REFERÊNCIAS 116

1. INTRODUÇÃO

A metodologia de isótopos estáveis é uma ferramenta chave para descrever o fluxo de nutrientes ao longo das cadeias alimentares (FRY, 2006). A aplicação desta metodologia em estudos de ecologia animal se mostra cada vez mais eficiente em traçar as relações tróficas assim como em identificar padrões de consumo de animais selvagens (BOSLEY et al., 2002; MARTINEZ DEL RIO et al., 2009; RAMOS; GONZALEZ-SOLÍS, 2012). Neste sentido, houve aumento substancial no número de artigos envolvendo esta metodologia nas últimas décadas (BEN-DAVID; FLAHERTY, 2012; LAYMAN et al., 2012).

A base da utilização dessa metodologia consiste no fato da composição isotópica dos tecidos animais refletir a composição isotópica dos seus alimentos (DENIRO; EPSTEIN, 1978; 1981; CRAWFORD; MCDONALD; BEARHOPS, 2008). Além disso, a análise de isótopos estáveis também pode fornecer informações sobre a utilização dos recursos em distintas escalas temporais (DALERUM; ANGERBJÖRN, 2005) permitindo a avaliação de tendências ecológicas em longo prazo, necessárias a planos de manejo e conservação (NEWSOME et al., 2007).

A composição isotópica de uma amostra é medida como a razão de um isótopo pesado pelo leve (HANDLEY et al., 1991). As razões de isótopos estáveis (i.e., $^{13}C/^{12}C$ e $^{15}N/^{14}N$) são expressas pela notação (δ) e são reportados como desvios, em partes por mil (‰) relativos às mesmas razões de padrões internacionais (FRY, 2006). A razão do isótopo do carbono ($\delta^{13}C$) é utilizada como traçador natural para diferenciar a fonte de carbono da dieta (PETERSON; FRY, 1987; FRY, 2006). Portanto, existe a possibilidade de identificar as diferentes fontes alimentares que contribuíram para a formação de determinado tecido (FRY, 2006), por exemplo, a contribuição de plantas de ciclo fotossintético C_3 e C_4 na dieta (e.g. MAGNUSSON et al., 1999; CERLING et al., 2006). Estes ciclos fotossintéticos detêm como característica marcante a grande diferença dos valores de $\delta^{13}C$ (C_3: -35 a -22 ‰; C_4: -16 a -9 ‰; FARQUHAR; EHLERINGER; HUBICK, 1989). Por outro lado, a razão do isótopo de nitrogênio ($\delta^{15}N$) indica o nível trófico de um organismo devido ao aumento gradual do nitrogênio da base ao topo da cadeia alimentar (MINAWAGA; WADA, 1984). Então, em cadeias alimentares simples ou pouco ramificadas, o efeito de biomagnificação deste isótopo indica a posição trófica do indivíduo.

A escolha do tecido apresenta grande importância nas análises dos isótopos estáveis. Os tecidos que são utilizados podem ser classificados em dois grupos, os que são metabolicamente ativos (e.g. sangue, músculo, fígado) ou inertes (e.g. cabelo, penas, unhas) (ETHIER, 2010).

Os primeiros, por possuírem uma atividade metabólica intensa, alteram sua composição isotópica em função da sua dieta adquirida recentemente. Por outro lado, os tecidos inertes mantêm a composição isotópica dos recursos alimentares do momento em que foram produzidos e se mantém quase inalterados depois disso. Assim, ambos podem ser considerados bons indicadores da dieta dos animais em diferentes escalas de tempo (BOWEN; WASSENAAR; HOBSON, 2005).

A correta interpretação de dados isotópicos coletados em estudos de campo depende da estimativa de fatores de discriminação e de taxas de *turnover* entre tecidos e dieta. O fator de discriminação pode ser definido como a alteração da razão isotópica decorrente da discriminação de um isótopo em detrimento de outro, que ocorre em processos naturais, como evaporação, queima ou qualquer reação bioquímica da via metabólica (FARQUAR et al., 1989), ou seja, na prática pode ser definido como a diferença na composição isotópica do animal e de sua dieta. A taxa de *turnover* isotópico pode ser definida como o tempo em que um tecido ou todo o consumidor leva para refletir a composição isotópica de sua dieta (TIESZEN et al., 1983; GANNES; MARTINEZ DEL RIO; KOUCH, 1998), em um processo que ocorre devido ao crescimento e substituição dos tecidos (MACAVOY; MACKO; ARNESON, 2005).

Experimentos visando a determinação do fator de discriminação exigem a manutenção de animais em cativeiro com a dieta controlada, por isso, muitos pesquisadores utilizam a média de valores estabelecidos por revisões de literatura (MCCUTCHAN et al., 2003; VANDERKLIFT; PONSARD, 2003) visto à impossibilidade de manter a espécie de interesse em condições controladas. No entanto, a utilização de dados imprecisos do fator de discriminação para determinado táxon pode resultar em problemas na determinação da contribuição de fontes alimentares da dieta ou no estabelecimento de seu nível trófico (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2008; 2009). Além disso, modelos matemáticos de mistura que utilizam valores isotópicos com o objetivo de determinar as proporções de uso dos recursos alimentares necessitam de estimativas precisas do fator de discriminação para fornecerem dados confiáveis (PHILLIPS; GREGG, 2001).

Em estudos com espécies selvagens a estimativa da taxa de *turnover* dos tecidos animais é necessária para a determinação do fator de discriminação, que deve refletir uma condição de equilíbrio entre a dieta e os tecidos. O conhecimento das diferenças nas taxas de *turnover* é essencial para a escolha do tecido adequado de acordo com os objetivos do estudo, pois as taxas de *turnover* variam entre os tipos de tecidos que refletem diferentes escalas temporais (DALERUM; ANGERBJÖRN, 2005). Tecidos com alta taxa de *turnover* refletem a composição isotópica de alimentos consumidos recentemente, no entanto, os tecidos com

baixas taxas de *turnover* refletem a composição isotópica de alimentos consumidos durante longos períodos (HOBSON; CLARK, 1992; 1993). Informações sobre os fatores de discriminação e estimativas de *turnover* de diferentes tecidos de animais em condições experimentais são escassos na literatura, principalmente em relação aos répteis (WARNE; GILMAN; WOLF, 2010).

No caso de répteis, a depressão metabólica é um fenômeno fisiológico que favorece a sobrevivência de um indivíduo diante de condições ambientais desfavoráveis (e.g. variações de temperatura, escassez de água e de alimentos) (STOREY; STOREY, 1990) e que pode influenciar a taxa de *turnover* e o fator de discriminação isotópico. Sua principal característica é uma redução da taxa metabólica padrão de 60-90% devido à redução da atividade do animal. Neste período os movimentos cessam, a alimentação é interrompida e as frequências cardíaca e respiratória diminuem (STOREY; STOREY, 1990).

O lagarto teiú *Salvator merianae* pertence à família TEIIDAE e pode atingir seu maior tamanho na fase adulta em cerca de 1,6 m de comprimento com massa corpórea de 5 kg (VANZOLINI, 1980). São animais forrageadores ativos e alimentam-se principalmente de insetos quando filhotes, e frutas, invertebrados, pequenos vertebrados, carniça e ovos quando jovens e adultos (LOPES; ABE, 1999; VANZOLINI; RAMOS-COSTA; VITT, 1980). A distribuição geográfica dessa espécie na natureza sobrepõe o Cerrado da América do Sul espalhando-se diagonalmente do nordeste brasileiro até o nordeste da Argentina (VANZOLINI; RAMOS-COSTA; VITT, 1980).

Entre as organizações sociais sempre foi comum o uso de animais silvestres para alimentação, atividades culturais, comércio, vestuários e medicamentos (BENNETT; ROBINSON, 1999; ALVES; NISHIDA, 2002; ALVES; PEREIRA-FILHO, 2007). Essa espécie é muito apreciada por algumas regiões no Brasil e em outros Países das Américas. Segundo moradoras rurais da Serra do Ouro Branco – Minas Gerais, uma área de transição de Mata Atlântica e Cerrado, o lagarto teiú tem sido muito apreciado e caçado no passado e no presente por caráter alimentar e medicinal (PINTO; MATEUS; PIRES, 2012). No litoral paulista é comum a espécie ser capturada e utilizada para fins medicinais utilizando sua gordura para os tratamentos (HANAZAKI; ALVES; BEGOSSI, 2009). Já na Argentina, Paraguai e em alguns locais da Bolívia, a carne de *S. merianae* é considerada uma iguaria (FITZGERALD, 1994). Segundo a Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais – IUCN (EMBERT; FITZGERALD; WALDEZ, 2018) das espécies ameaçadas seu status é pouco preocupante. Mesmo assim, sugere-se investigações para

assegurar que não esteja ocorrendo declínio populacional devido a caça por pele e consumo local.

Na região sudeste do Brasil *S. merianae* (lagarto teiú) apresenta um ciclo anual de atividade durante o verão e inatividade durante o inverno (ABE, 1995). Durante os meses frios e secos, de maio a agosto, o lagarto entra em um estado dormente, recua-se para abrigos e cessa completamente a termorregulação e qualquer ingestão de alimentos ou água. Durante a dormência, a taxa metabólica é acentuadamente reduzida em relação ao período de atividade (ABE, 1983; LOPES; ABE, 1999; ANDRADE et al., 2004). Para a sobrevivência durante o jejum prolongado, lagartos teiús utilizam lipídeos a partir de depósitos de gordura, carboidratos e proteínas hepáticas e de músculos esqueléticos (SOUZA et al., 2004). Portanto, uma série de ajustes devido à depressão metabólica associada ao jejum de longo prazo é necessária. Alguns desses ajustes envolvem a regulação do catabolismo de substratos energéticos (STOREY; STOREY, 1990; IP; CHEW, 2010).

No final de agosto até início de setembro, ocorre o período do despertar, em que os teiús começam a emergir dos abrigos para termorregular, retomando a ingestão de água e o forrageamento (ANDRADE et al., 2004). Com a retomada da alimentação os teiús começam a recuperar a massa corpórea. Logo na sequência do período de dormência os animais adultos iniciam o período reprodutivo (ANDRADE et al., 2004). Dados recentes mostraram que indivíduos de *S. merianae* são capazes de sustentar endogenamente sua temperatura aproximadamente de 5 a 6º acima da temperatura ambiente durante período reprodutivo (TATERSALL et al., 2016). Desta forma, estudar esse modelo de animal é de extrema importância, pois, se trata de uma espécie que obedece a um ciclo sazonal de atividades e ajustes fisiológicos distintos e caracterizados em dois períodos, um de atividade e outro de inatividade.

Este estudo foi realizado a fim, de determinar a taxa de *turnover* e as diferenças na composição isotópica do animal em relação à sua dieta (fator de discriminação) utilizando sangue, um tecido metabolicamente ativo, visando identificar a influência do período de inatividade, de variações intraespecíficas, ontogenéticas e relativas ao sexo dos animais.

1.1. Objetivos

Determinar parâmetros específicos de *S. merianae* para modelagem matemática do uso de recursos alimentares baseado em traçadores isotópicos naturais.

1.1.1 Objetivos específicos:

a) Determinar a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N nas células vermelhas e plasma de *S. merianae* juvenis e adultos;
b) Determinar os fatores de discriminação para os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio entre plasma e células sanguíneas vermelhas e a dieta de *S. merianae* juvenis e adultos;
c) Verificar se o período de dormência sazonal pode influenciar a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N, e o fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio nas células vermelhas e no plasma de *S. merianae* juvenis e adultos;
d) Analisar individualmente a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N e o fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *S. merianae* juvenis e adultos;
e) Analisar nos indivíduos de *S. merianae* se existe diferença ontogenética (adultos e juvenis) e entre os sexos (fêmeas e machos) na taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N e o fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ajustes bioquímicos e fisiológicos de *Salvator merianae* (Lagarto teiú) ao longo da dormência

Para a sobrevivência durante o jejum prolongado, lagartos teiús necessitam ajustes fisiológicos que o preparem para mobilizar os lipídeos a partir de depósitos de gordura, carboidratos e proteínas hepáticas e do músculo esquelético (SOUZA et al., 2004). Os indivíduos juvenis no primeiro período de vida (após eclosão) apontam um crescimento significativo de massa corpórea até entrar no processo de dormência. Após emergirem da dormência, no seu segundo período de vida, a retomada da alimentação ocorre com um grande depósito de reserva de gorduras e decréscimo da sua taxa de crescimento em relação ao período anterior (SOUZA et al., 2004; ANDRADE et al., 2004). Nas fases iniciais do jejum prolongado o carboidrato é um substrato energético relevante, realizando o suprimento das necessidades energéticas dos tecidos glicose-dependentes até o seu esgotamento. Em seguida, ocorre a mobilização dos estoques lipídicos através da oxidação do tecido hepático, o que aumenta gradativamente no outono, dormência e no despertar (SOUZA et al., 2004). Além destes, Souza et al. (2004) e Haddad (2007), verificaram que a concentração do β-hidroxibutirato foi duas vezes maior no período de dormência em relação ao período de atividade mostrando que boa parte dos lipídios são mobilizados a fim de produzir corpos cetônicos para suprir os tecidos como cérebro e coração. Nesse mesmo estudo os autores apontaram que para a manutenção dos tecidos glicose-dependentes foi complementada pela gliconeogênese, tendo os aminoácidos das proteínas musculares destinados ao percurso da produção de corpos cetônicos, visto pelo aumento do piruvato e dos corpos cetônicos na corrente sanguínea (SOUZA et al., 2004; HADDAD, 2007).

No final de agosto até início de setembro, os teiús começam a emergir da dormência e voltam a assoalhar, tornando-se cada vez mais ativos, retornando a ingerir água e forragear (ANDRADE et al., 2004). Neste período os animais voltam a alimentar-se e os pequenos lagartos começam a ganhar massa corpórea. Os animais adultos iniciam o período reprodutivo sequentemente ao período de inatividade e vai até novembro (ANDRADE et al., 2004). Após o período reprodutivo ocorre uma redução da taxa metabólica, frequência respiratória e cardíaca e os animais adultos começam a aumentar a reserva lipídica (SANDERS et al., 2015). Dados recentes mostraram que indivíduos de *S. merianae* no período reprodutivo são capazes de sustentar endogenamente sua temperatura corpórea acima da temperatura ambiente,

apresentando uma endotermia facultativa (TATERSALL et al., 2016). Os autores sugerem que a endotermia facultativa está relacionada com o período reprodutivo, no qual o aumento da capacidade metabólica parece favorecer ambos os sexos (TATERSALL et al., 2016). Nesse período as fêmeas apresentam o cuidado parental da desova, uma maior temperatura corpórea contribui com a estabilidade da temperatura do ninho promovendo melhores taxas de desenvolvimento dos embriões (TATERSALL et al., 2016). O aumento da temperatura para os machos parece ser vantajoso na produção de hormônios (e.g. testosterona), espermatogênese, desenvolvimento gonadal e mudanças morfológicas sexuais (TATERSALL et al., 2016).

2.2. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico

Em estudos com espécies selvagens a estimativa da taxa de *turnover* dos tecidos animais é necessária para chegar ao fator de discriminação, que deve refletir uma condição de equilíbrio entre a dieta e os tecidos. A taxa de *turnover* isotópico pode ser definida como o tempo em que um tecido ou todo o consumidor leva a refletir a composição isotópica de sua dieta (TIESZEN et al., 1983; GANNES; MARTINEZ DEL RIO; KOUCH, 1998), em um processo que ocorre devido ao crescimento e substituição dos tecidos (MACAVOY; MACKO; ARNESON, 2005).

O conhecimento das diferenças nas taxas de *turnover* é essencial para a escolha do tecido adequado de acordo com os objetivos do estudo, pois as taxas de *turnover* variam entre os tipos de tecidos que refletem diferentes escalas temporais (DALERUM; ANGERBJÖRN, 2005). Tecidos com alta taxa de *turnover* refletem a composição isotópica de alimentos consumidos recentemente, no entanto, os tecidos com baixas taxas de *turnover* refletem a composição isotópica de alimentos consumidos durante longos períodos (HOBSON; CLARK, 1992; 1993).

No entanto, informações sobre os fatores de discriminação e estimativas de *turnover* de diferentes tecidos de animais em condições experimentais são escassos na literatura, principalmente em relação aos répteis (WARNE; GILMAN; WOLF, 2010). Estudos pioneiros apontam que a diferença na composição isotópica entre o animal e sua dieta é representada pelo fator de discriminação, sendo que seu fluxo pode variar de 1‰ para carbono e 3‰ para nitrogênio (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2007). Com o decorrer dos anos outros estudos sugeriram apontando que a diferença do animal e sua dieta pode variar entre os táxons de vertebrados. Sendo que a amplitude de variação pode ser de 0,4‰ – 7,9‰ para carbono e de 0,1‰ – 4,0‰ para nitrogênio (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2009).

Além destes, os estudos elucidaram que tanto a taxa de *turnover* e consequentemente o fator de discriminação isotópico pode variar além dos táxons e entre os tecidos. Podendo variar

também em relação à idade, taxas de crescimento, qualidade da dieta, proporção da dieta, tamanho e temperatura (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2007, MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). Martinez Del Rio et al. (2009) propôs que a taxa de *turnover* pode variar fortemente em função do tamanho corpóreo, sendo que a mesma seria mais rápida para animais menores e o inverso para os animais maiores. Zanden et al. (2015) verificou em seu estudo que para os ectotérmicos a meia vida do $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ aumentou previsivelmente com o tamanho do corpo menor, propondo um modelo empírico simples para estima-la.

Ademais estas influências, em vários estudos apontam que a taxa de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N associado ao jejum prolongado e restrição alimentar pode se alterar também (HOBSON et al., 1993; POLISCHUK; HOBSON; RAMSAY, 2001; CHEREL et al., 2005; FULLER et al., 2005; GAYE-SIESSEGGER et al., 2007). A incorporação de macro nutrientes sofre influência das taxas de catabolismo dos tecidos, anabolismo e as vias metabólicas que estão sendo utilizadas (CARLETON; MARTINEZ DEL RIO, 2005). Ursos polares são fisiologicamente adaptados a jejuar por longos períodos durante a hibernação, para tanto, eles mobilizam os lipídios e reciclam o nitrogênio da ureia e, desta forma, minimizam a perda da massa muscular (STENYINKEL et al., 2013). Além deste, a mobilização de lipídios tem sido apontada por liberar água produzida endogenamente reduzindo assim a ingestão de água (COSTA, 2009; ORTIZ, 2001), vantajoso para um animal em período de dormência sob depressão metabólica.

Lagartos teiús *S. merianae* também mobiliza lipídios durante o período de dormência sazonal e durante a reprodução que ocorre após eles emergirem (TATERSALL et al., 2016). Em pinguins rei (CHEREL et al., 2005) encontrou empobrecimento em $\delta^{13}C$ no plasma, sugerindo uma relação com a mobilização de lipídios durante o jejum prolongado. A diminuição dos valores de $\delta^{13}C$ ocorre porque os lipídios são esgotados em ^{13}C, e assim, os valores de $\delta^{13}C$ em massa dos consumidores tornam se empobrecidos (GAYE-SIESSEGGER et al., 2004).

Enriquecimento em $\delta^{15}N$ em animais que apresentam jejum prolongado também pode ocorrer (HERTZ, 2015). Esse ocorrido pode estar relacionado com o catabolismo dos tecidos musculares. Esses resultados apontam que os animais podem utilizar os aminoácidos endógenos nesse momento, mesmo que a síntese proteica esteja reduzida, ela é ainda suficiente podendo levar ao aumento da $\delta^{15}N$. Hertz (2015) verificou em seu trabalho um aumento médio de 0,5 ‰ na $\delta^{15}N$ concomitantemente a restrição nutricional. Esses achados estão de acordo com o modelo proposto por Martinez Del Rio e Wolf (2005), denominado de balanço nitrogenado negativo, utilizado tanto para restrição alimentar como

jejum prolongado relacionado com migração, dormência sazonal, hibernação e estivação. Esse modelo prevê que a incorporação do nitrogênio nos tecidos é menor que a perda do nitrogênio (MARTINEZ DEL RIO; WOLF, 2005). O contrário ocorre com os animais em crescimento, o modelo do balanço nitrogenado positivo mostra que durante o crescimento a incorporação do nitrogênio nos tecidos excede a perda no nitrogênio, e, portanto, a sua composição isotópica do nitrogênio será menor do que os animais que não estão em fase de crescimento que apresentam um balanço nitrogenado neutro (MARTINEZ DEL RIO; WOLF, 2005).

Diante deste contexto, verifica-se que estudos visando a determinação do fator de discriminação é de extrema importância. O lagarto teiú *S. merianae* é uma espécie que apresenta um ciclo sazonal anual bem característico, e para tanto, ocorre ajustes fisiológicos que não podem ser desconsiderados. Pois a utilização de dados imprecisos do fator de discriminação para determinado táxon pode resultar em problemas na determinação da contribuição de fontes alimentares da dieta ou no estabelecimento de seu nível trófico (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Protocolo experimental

Este estudo foi realizado em colaboração entre o Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP) e o Departamento de Zoologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) – campus de Rio Claro. Neste sentido, foram utilizados 11 indivíduos adultos, sendo seis machos e quatro fêmeas e 26 indivíduos juvenis de *S. merianae* mantidos em cativeiro nas dependências do Jacarezário da UNESP (Figura 1). O criadouro para fins científicos da UNESP de Rio Claro possui registro no IBAMA e os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com a aprovação pelo comitê de ética com os protocolos (CEUA/CENA 003/2015, CEUA/UNESP 5888/2015) respectivamente e o Sisbio nº 47958-1.

Figura1 - Indivíduo Adulto de *Salvator merianae* (lagarto teiú)

Os recintos que abrigam os espécimes apresentam dimensões de 4,66 m x 3 m com tocas de alvenaria localizadas centralmente (85 cm x 63 cm x 30) cm com profundidade parcialmente abaixo do solo. Os lagartos foram alimentados diariamente e possuíam livre acesso a água. Todos os indivíduos foram individualizados através de marcações com microchips. Além disso, foram obtidos dados biométricos (comprimento rostro-cloacal e total) e massa corpórea coletados através de medições com fita métrica (precisão: 0,1 cm) e balança de Pesola (precisão: 10 g), respectivamente no início e durante o decorrer do experimento.

Experimentos para a estimativa da taxa de *turnover* e do fator de discriminação isotópico de tecidos animais envolvem a alteração de dietas com composição isotópica amplamente distintas. Desta forma, os lagartos teiú foram alimentados inicialmente com uma dieta controlada de pescoço de frango moído oriundas de uma mesma empresa, sendo que os frangos

são alimentados com ração comercial [composição: milho (C4) e soja (C3)], suplementadas com ração de coelho, representando 92% e 8% respectivamente ao longo de suas vidas. Logo após a coleta experimental inicial, a dieta foi alterada com a adição de farelo de soja na proporção de 1:1.

O sangue foi coletado de cada indivíduo através de punção da veia caudal (KAPLAN, 1968). Uma alíquota do sangue foi coletada (1 ml para os indivíduos adultos e 300µl para os indivíduos juvenis) foi imediatamente centrifugada por cinco minutos a 13000 rpm (Sigma, UK) visando a separação das células vermelhas e do plasma do sangue total. A coleta de sangue inicial ocorreu durante o período da pré-dormência (PD) no mês de abril de 2016, e os dados utilizados para o ajuste da composição da nova dieta. Em setembro de 2016, no período do despertar, foi realizada a troca da dieta, e a coleta de amostra realizada e denominada de tempo zero. Em seguida, novas coletas foram realizadas nos tempos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 135, 165, 195 e 225 dias, a partir da troca da dieta.

As amostras do plasma, células sanguíneas vermelhas e dieta foram secas em estufa a 50ºC até atingirem massa constante. O material resultante foi macerado com o auxílio de almofariz, colocado em cápsulas de estanho e pesado (0,8-1,0 mg).

As composições isotópicas de carbono e nitrogênio foram determinadas pela combustão "on-line" da amostra por CF-IRMS em um analisador elementar Carlo Erba (CHN-1110) acoplado ao espectrômetro de massas Thermo Scientific (Delta Plus), no Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (LEI-CENA), da Universidade de São Paulo (USP). O cálculo da composição isotópica do carbono e nitrogênio foi realizado por meio da equação:

$$\delta^{13}C\,‰ \text{ ou } \delta^{15}N\,‰ = \left(\frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \right) \qquad (1)$$

onde R é a razão molar $^{13}C/^{12}C$ ou $^{15}N/^{14}N$ na amostra e no padrão, sendo os resultados apresentados em delta (δ) por mil (‰). Os padrões usados para o carbono e nitrogênio foram o Viena-PeeDee Belemnite (PDB) e o ar atmosférico (AIR), respectivamente. O erro analítico das medidas isotópicas no LEI-CENA tem sido estimado em 0,3‰ e 0,5‰ para o carbono e o nitrogênio, respectivamente.

3.2. Forma de análise dos dados

A taxa de *turnover* isotópico do ^{13}C e ^{15}N para o plasma e células sanguíneas vermelhas foi determinado por meio de curvas de decaimento exponencial aplicadas ao conjunto de dados isotópicos em função do tempo e representada pela equação:

$$y = a + be^{ct} \qquad (2)$$

onde: y é o valor de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ no tempo *t* (dias a partir da troca da dieta), *a* representa o valor assintótico isotópico do tecido, *b* é a mudança total nos valores de $\delta^{13}C$ ou $\delta^{15}N$ após a mudança da dieta e *c* é o *turnover* fracional do tecido (HOBSON; CLARK, 1992).

A taxa de *turnover* foi expressa em termos de meia vida. A estimativa da meia vida foi realizada pela equação:

$$t_{1/2} = (\ln 0{,}5) / c \qquad (3)$$

onde: $t_{1/2}$ representa o tempo em dias em que metade dos isótopos estáveis de carbono ou nitrogênio foram substituídos no tecido correspondente. O *turnover* isotópico completo foi estimado multiplicando cada valor de $t_{1/2}$ por 7 (SEMINOFF; BJORDAL; BOLTEN, 2007).

O fator de discriminação foi determinado pela equação:

$$\Delta(p/s) = \delta(p) - \delta(s) \qquad (4)$$

onde: $\Delta(p/s)$ = fator de discriminação ; $\delta(p)$ = razão isotópica da amostra do animal; $\delta(s)$ = razão isotópica da dieta (MARQUES et al., 2014).

Porém, alguns indivíduos apresentaram resultados na forma sigmóide, desta forma, foi utilizado o modelo de regressão sigmoidal de Boltzmann ao conjunto de dados isotópicos em função do tempo.

$$\delta^{13}C(t) = \delta^{13}C(f) + \frac{\delta^{13}C(i) - \delta^{13}C(f)}{1 + e^{\frac{t-\chi o}{dx}}} \qquad (5)$$

$$\delta^{15}N(t) = \delta^{15}N(f) + \frac{\delta^{15}N(i) - \delta^{15}N(f)}{1+e^{\frac{t-\chi o}{dx}}} \quad (6)$$

onde: $\delta^{13}C(i), \delta^{15}N(i)$ = valor inicial de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$; $\delta^{13}C(f), \delta^{15}N(f)$ = valor final de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$; $\delta^{13}C(t), \delta^{15}N(t)$ = valor final de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ em qualquer tempo; χ_0 = ponto de inflexão da sigmóide, representando a meia vida do carbono e nitrogênio; *dx* = constante de tempo (expresso em unidade de tempo); *t* = tempo experimental (expresso em dias) (SILVA; DUCATTI; COSTA, 2007).

As médias de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ e os respectivos fatores de discriminação do tecido sanguíneo (células vermelhas e plasma), foram submetidos à análise de variância ANOVA e ao teste de comparação de médias Tukey's ($P<0.05$). Além destes, foram realizadas comparações com o Teste t-Student da $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$, dos fatores de discriminação do tecido sanguíneo (células vermelhas e plasma) entre ontogenia (adultos e juvenis) e entre os sexos (machos e fêmeas). Todos os dados estatísticos foram analisados pelo software Origin 2016-© (OriginLab Corporation).

4. RESULTADOS

4.1. Elaboração da nova dieta

No total foram utilizados 26 indivíduos juvenis de sexo indeterminado e 11 indivíduos adultos, sendo 6 machos e 4 fêmeas de *S. merianae* para a realização do experimento. As massas dos juvenis variaram de 304,00 – 1746,00g e a dos adultos de 1779,00 – 4053,00g. O comprimento total variou de 59,00 – 99,00 cm para os juvenis e de 106,00 – 126,00cm para os adultos. Houve diferença significativa entre os juvenis e adultos tanto em relação a massa corpórea (Juvenis = 843,73 ± 345,42g; Adultos = 2760,00 ± 743,29g; t = -10,81; gl = 35; $p < 0,001$) quanto ao comprimento total (Juvenis = 78,88 ± 10,20cm; Adultos = 117,72 ± 7,55cm; t = -11,34; gl = 35; $p < 0,001$) (Figura 2, 3).

Figura 2 - Box-plot da massa corpórea de Juvenis (N = 26) e Adultos (N = 11) *Salvator merianae* (lagarto teiú)

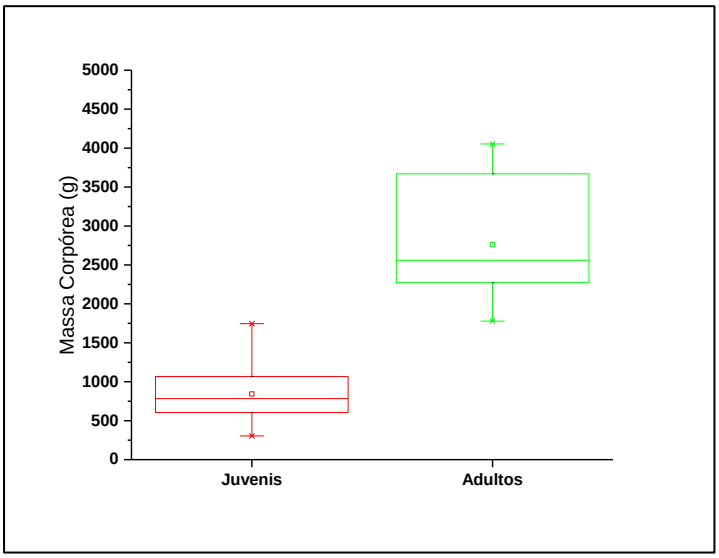
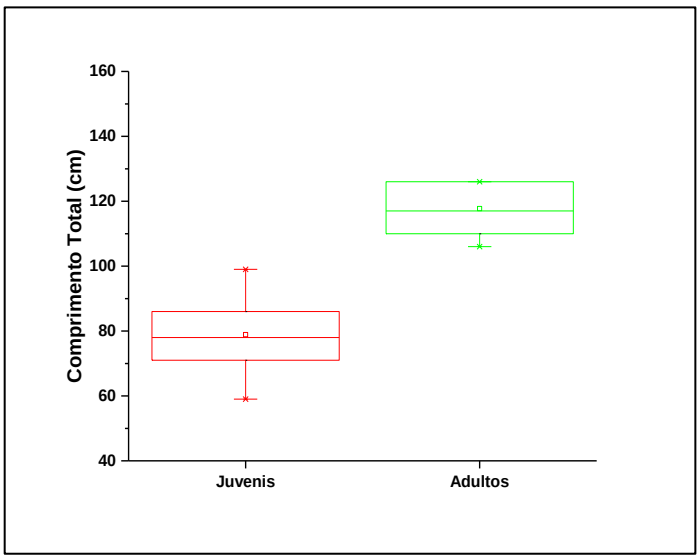
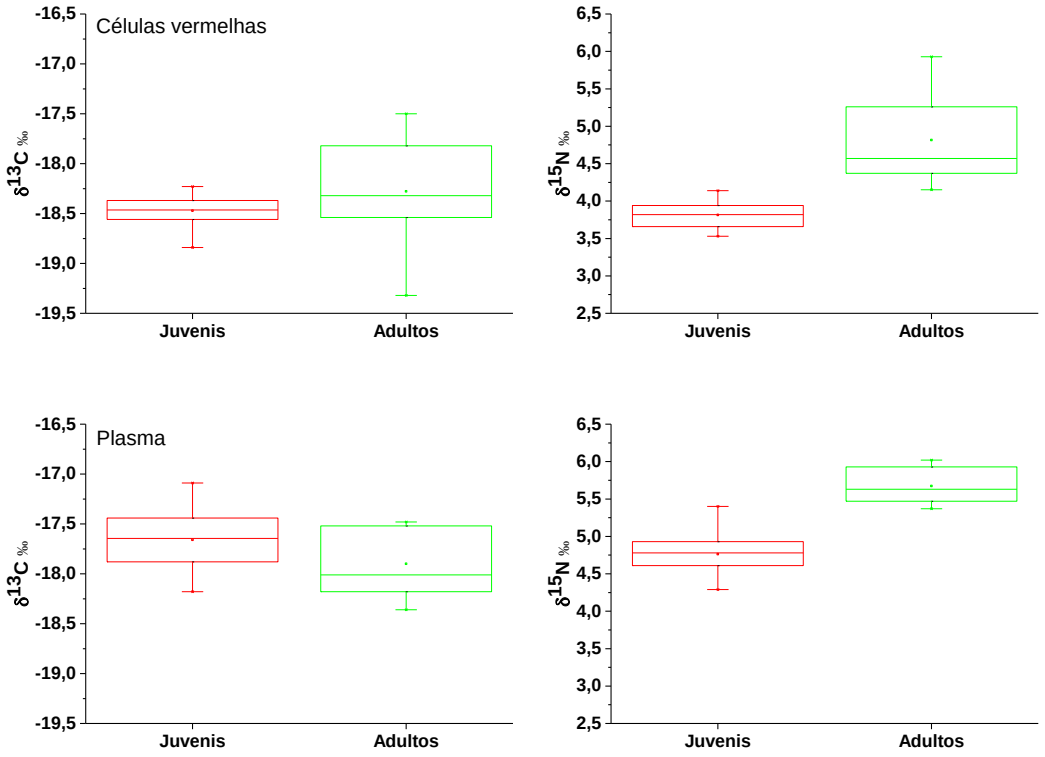


Figura 3 - Box-plot do comprimento total de Juvenis (N = 26) e Adultos (N = 11) *Salvator merianae* (lagarto teiú)



Para realizar o ajuste da nova dieta foi realizada a análise da composição isotópica do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma dos indivíduos juvenis e adultos. Os dados apresentaram diferença significativa entre os juvenis e adultos para $\delta^{15}N$ das células vermelhas, tanto quanto para o plasma respectivamente (Juvenis = 3,82 ± 0,16 ‰ (3,53 – 4,14 ‰); Adultos = 4,81 ± 0,54 ‰ (4,15 – 5,93 ‰); t = -8,70; gl = 35; p < 0,001) e (Juvenis = 4,76 ± 0,24 ‰ (4,29 – 5,40 ‰); Adultos = 5,67 ± 0,23 ‰ (5,37 – 6,02 ‰); t = -10,36; gl = 35; p < 0,001). Para o $\delta^{13}C$ das células vermelhas não foi encontrado diferença significativa entre os juvenis e adultos (Juvenis = -18,47 ± 0,14 ‰ (-18,84 – -18,23 ‰); Adultos = -18,27 ± 0,58 ‰ (-19,32 – -17,50 ‰); t = -1,62; gl = 35; p = 0,114), porém, a $\delta^{13}C$ do plasma apontou diferença significativa entre os juvenis e adultos (Juvenis = -17,66 ± 0,27 ‰ (-18,18 – -17,09 ‰); Adultos = -17,90 ± 0,33 ‰ (-18,36 – -17,48 ‰); t = 2,29; gl = 35; p = 0,003) (Figura 4).

Figura 4 - Box-plot das composições de isótopos estáveis ($\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$) de Juvenis (N = 26) e Adultos (N = 11) do período (PD1) de *Salvator merianae* (lagarto teiú)



Além, das composições isotópicas ($\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$) dos animais foi realizado a análise da dieta que foi administrado ao longo de sua vida. Para realizar os ajustes necessários para elaboração da nova dieta foram coletadas 10 amostras de carne de frango e 5 amostras de ração de coelho representando a dieta que foram fornecidos aos animais ao longo de sua vida. As médias dos valores de ($\delta^{15}N$ - $\delta^{13}C$) de cada tipo de dieta são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão das composições isotópicas ($\delta^{15}N$ - $\delta^{13}C$) dos diferentes tipos de dieta

Tipo de dieta	$\delta^{15}N$ (‰)		$\delta^{13}C$ (‰)	
	Média	**Desvio Padrão**	**Média**	**Desvio Padrão**
Carne de frango 92%	3,72	0,16	-15,52	0,15
Ração de coelho 8%	2,98	0,31	-25,77	0,58

Baseado nos dados da dieta anterior e os dados das composições isotópicas de carbono e nitrogênio que os animais apresentaram foram realizados o ajuste para a nova dieta. Para tanto, foi elaborado uma mistura de carne de frango com farelo de soja tostado na proporção de 1:1 (Tabela 2).

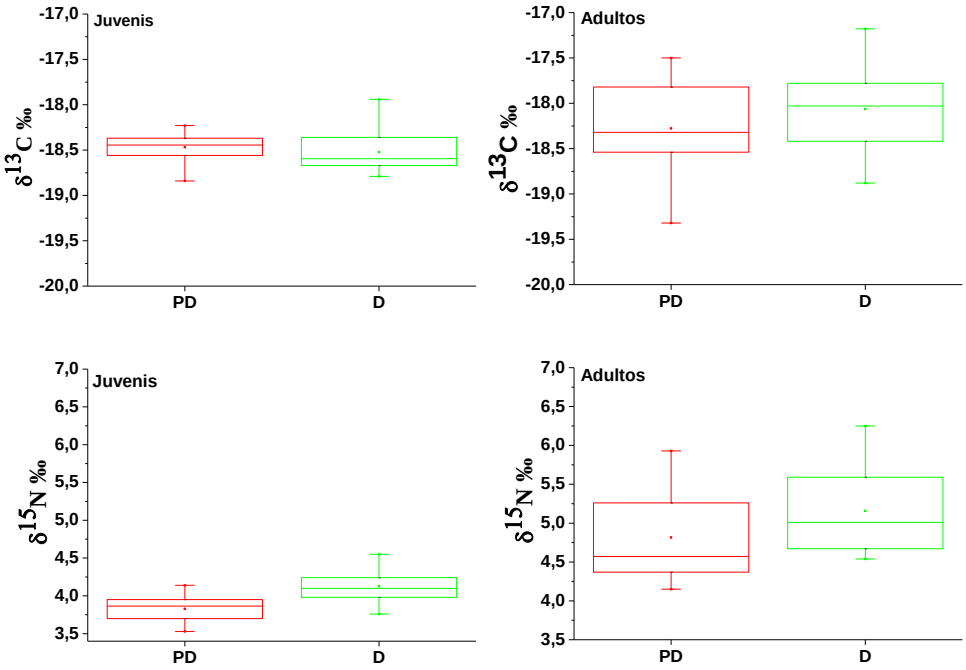
Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão das composições isotópicas ($\delta^{15}N$ - $\delta^{13}C$) da mistura correspondente à nova dieta

Tipo de dieta	**$\delta^{15}N$ (‰)**		**$\delta^{13}C$ (‰)**	
	Média	**Desvio Padrão**	**Média**	**Desvio Padrão**
Carne de frango e farelo de soja tostado 1:1	0,31	0,27	-23,01	0,61

4.2. Sazonalidade - Pré dormência e despertar

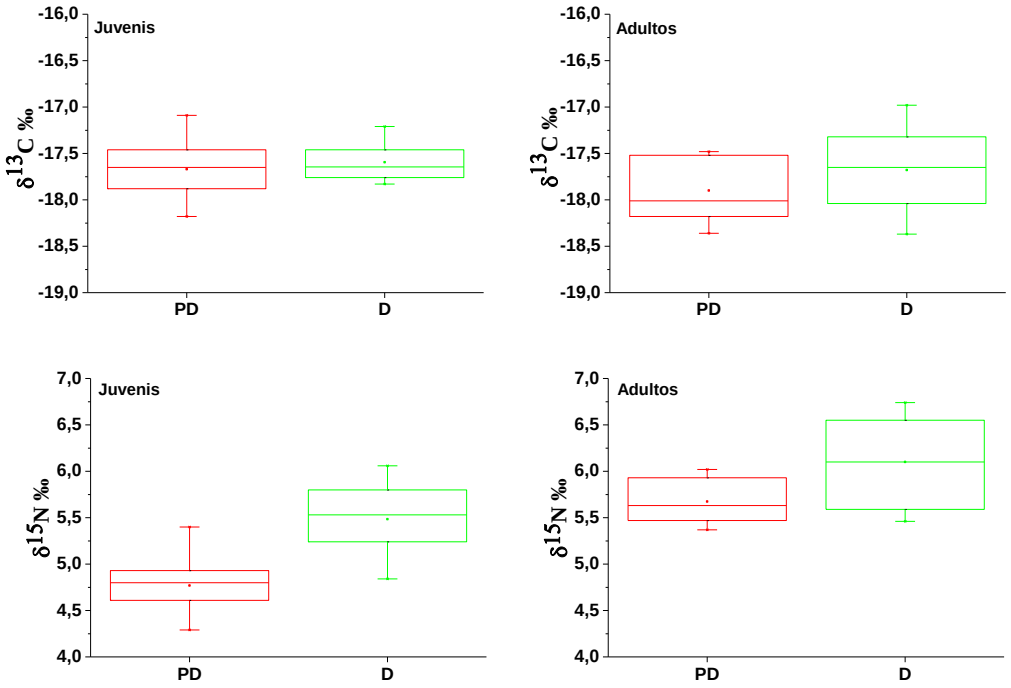
Foram analisados isotopicamente os animais no período que antecede a dormência sazonal denominado de PD e no despertar em jejum (D), a fim, de verificar se ocorreriam diferenças nas composições isotópicas relacionadas ao jejum prolongado durante o período de dormência sazonal. Para $\delta^{13}C$ das células vermelhas em juvenis não houve diferença significativa entre os períodos amostrados, (PD = -18,47 ± 0,14 ‰; D = -18,52 ± 0,20 ‰; t = 1,09; gl = 50; p = 0,281). O mesmo ocorreu com os indivíduos adultos na $\delta^{13}C$ sendo, (PD = -18,28 ± 0,58 ‰; D = -18,06 ± 0,53 ‰; t = -0,90; gl = 20; p = 0,380). Por outro lado, houve diferença significativa para a $\delta^{15}N$ dos juvenis, sendo que o enriquecimento do nitrogênio ocorreu no período do despertar em jejum (PD = 3,83 ± 0,15 ‰; D = 4,13 ± 0, 20 ‰; t = -5,87; gl = 50; p < 0,001). No entanto, os adultos não apontaram diferença significativa para a $\delta^{15}N$, (PD = 4,81 ± 0,54 ‰; D = 5,16 ± 0, 54 ‰; t = -.1,48; gl = 20; p = 0,154) (Figura 5).

Figura 5 - Box-plot das composições isotópicas ($\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$) das células vermelhas dos juvenis (N =26) e adultos (N = 11) de *S. merianae* dos períodos de pré-dormência (PD) e despertar em jejum (D)



Para $\delta^{13}C$ do plasma dos juvenis e adultos não houve diferença significativa entre os períodos amostrados (PD = -17,67 ± 0,26 ‰; D = -17,60 ± 0,20 ‰; t = -1,16; gl = 50; p = 0,252) e (PD = -17,90 ± 0,33 ‰; D = -17,68 ± 0,42 ‰; t = -1,36; gl = 20; p = 0,190). Todavia, houve diferença significativa na $\delta^{15}N$ tanto para os juvenis quanto para os adultos nas amostragens dos períodos (PD = 4,77 ± 0,25 ‰; D = 5,48 ± 0,35 ‰; t = -8,50; gl = 50; p < 0,001) e (PD = 5,67 ± 0,23 ‰; D = 6,10 ± 0,46 ‰; t = -2,71; gl = 20; p = 0,013) (Figura 6).

Figura 6 - Box-plot das composições isotópicas ($\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$) do plasma dos juvenis (N =26) e adultos (N = 11) de *S. merianae* dos períodos de pré-dormência (PD) e despertar em jejum (D)



4.3. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis de *Salvator merianae*

Inicialmente o experimento contou com 26 indivíduos que ao longo do tempo foi reduzindo-se. Houve indivíduos que responderam prontamente a nova dieta, porém houve os que levaram em média 60 dias para responder e os que não responderam a dieta, e em aproximadamente 105 dias já estavam mortos, restando apenas 9 indivíduos no final do experimento.

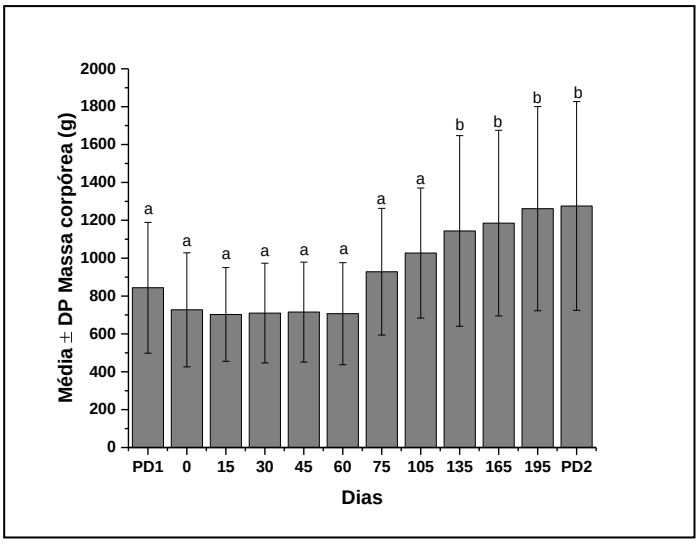
Os indivíduos acordaram apresentando uma massa menor em relação ao PD1 conforme o esperado, pois eles utilizaram sua reserva para se manter durante o processo de dormência sazonal. Do período 0 quando despertaram até 105 dias não houve diferença significativa, ou seja, não houve ganho de massa nesses períodos que correspondem a uma atividade metabólica maior. Porém, começaram a ganhar massa a partir de 135 dias de experimento concomitantemente ao período em que seu metabolismo diminui ($F = 5,86$; $df = 11$; $p < 0,001$) (Tabela 3, Figura 7).

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão da massa corpórea de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Massa corpórea (g)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	26	843,73[a]	345,42
0	26	727,15[a]	300,98
15	22	702,68[a]	247,45
30	21	710,00a	263,27
45	20	715,25[a]	263,87
60	18	706,78[a]	269,36
75	16	928,33[a]	334,41
105	15	1027,07[a]	343,32
135	12	1143,67[b]	503,42
165	11	1185,09[b]	490,20
195	9	1261,44[b]	538,99
PD2	9	1275,67[b]	551,27

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 7 - Média e desvio padrão da massa corpórea de indivíduos juvenis de *Salvator merianae*



A taxa de crescimento desses indivíduos foi mínima, esses dados estão de acordo com o 2º ano de vida dessa espécie. Quando os pequenos lagartos eclodem eles apresentam uma taxa de crescimento explosiva que se mantem no primeiro ano de vida, reduzindo a partir do 2º ano e praticamente se tornando nula ao 3º ano de vida. O comprimento total apresentou apenas um

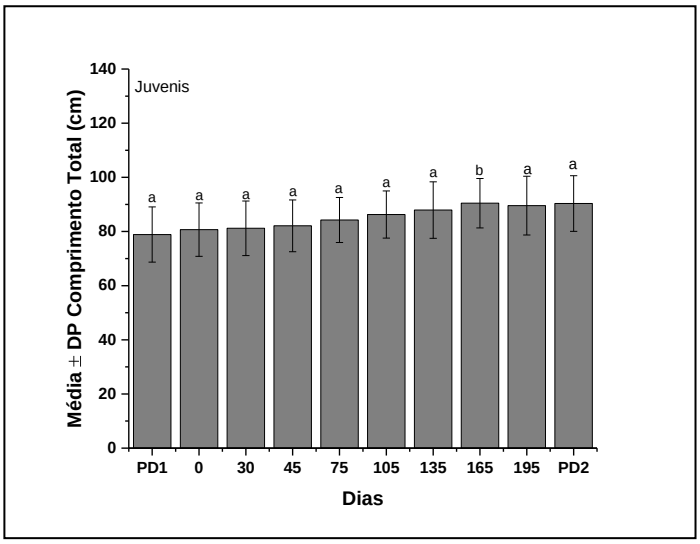
período distinto dos demais, que ocorreu aos 165 dias do experimento, retornando à similaridade aos demais períodos a partir dos 195 dias (F = 2,99; df = 9; p = 0,003) (Tabela 4, Figura 8).

Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão do comprimento total de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Comprimento Total (cm)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	26	78,88[a]	10,21
0	26	80,69[a]	9,84
30	21	81,19[a]	10,08
45	20	82,01[a]	9,56
75	16	84,25[a]	8,31
105	15	86,27[a]	8,72
135	12	87,92[a]	10,44
165	11	90,45[b]	9,16
195	9	89,56[a]	10,84
PD2	9	90,33[a]	10,27

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 8 - Média e desvio padrão do comprimento total de indivíduos juvenis de *Salvator merianae*



Os juvenis apresentaram variação entre os períodos amostrados nas composições isotópicas do carbono e nitrogênio para as células vermelhas. Essas mudanças nos valores eram esperadas para o experimento de taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico. A partir de 105 dias, houve diferença significativa nos valores ($\delta^{13}C$: F = 31,31; df = 10; p = 0,001) das células vermelhas em relação aos valores isotópicos iniciais, isso indica que os indivíduos começaram a refletir a nova dieta (Tabela 5, Figura 9). A mudança do nitrogênio começou depois dos 30 dias, porém houve um enriquecimento no valor novamente no período de 60, 105 e PD2 dias. Essa variação possivelmente ocorreu devido ao estado nutricional, sendo que no PD2 esses animais já tinham cessado sua alimentação e estavam prontos para entrada no processo de dormência sazonal, começando a utilizar sua reserva para se manter nessa fase, fechando dessa forma, o ciclo sazonal anual (Células vermelhas $\delta^{15}N$: F = 7,53; df = 10; p < 0,001) (Tabela 6, Figura 10).

Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	25	-18,53[a]	0,21
15	22	-18,73[a]	0,21
30	21	-18,86[a]	0,29
45	20	-19,05[a]	0,61
60	18	-19,15[a]	0,68
75	16	-19,83[a]	0,93
105	14	-20,14[b]	1,04
135	10	-20,74[b]	0,84
165	10	-21,07[b]	0,90
195	9	-21,12[b]	1,00
PD2	9	-21,19[b]	1,08

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 9 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C das células vermelhas dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae*

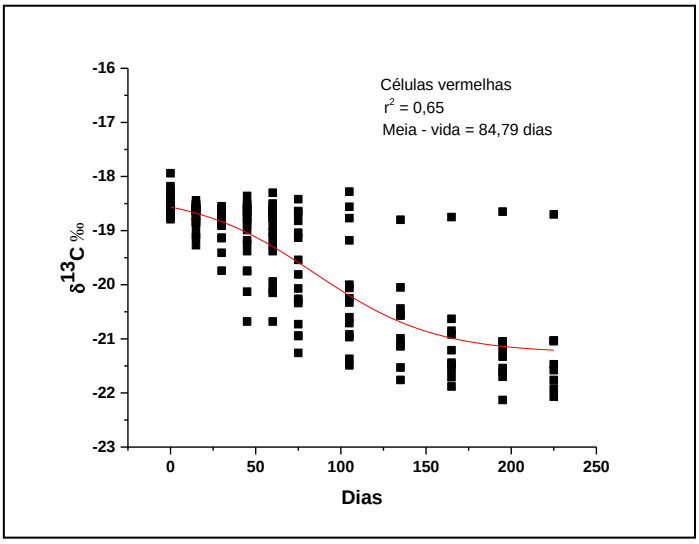
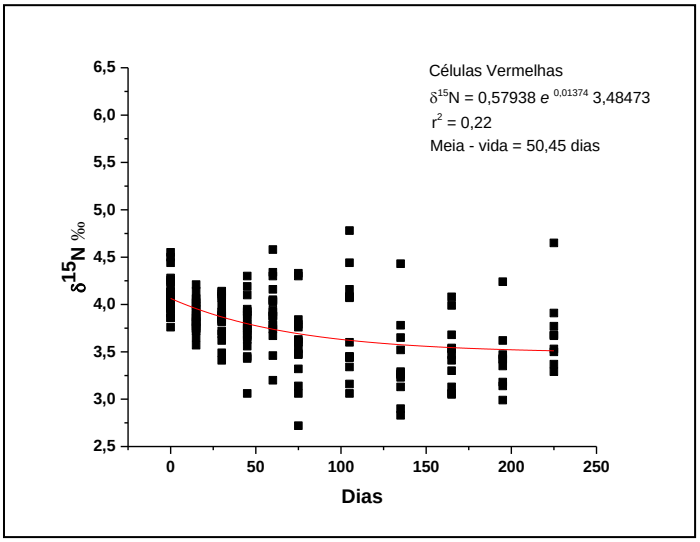


Tabela 6. Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	25	4,10[a]	0,20
15	22	3,88[a]	0,16
30	21	3,86[a]	0,20
45	20	3,77[b]	0,28
60	18	3,92[a]	0,32
75	15	3,57[b]	0,42
105	14	3,75[a]	0,51
135	11	3,39[b]	0,45
165	11	3,48[b]	0,34
195	9	3,43[b]	0,36
PD2	9	3,71[a]	0,40

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 10 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N das células vermelhas dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae*



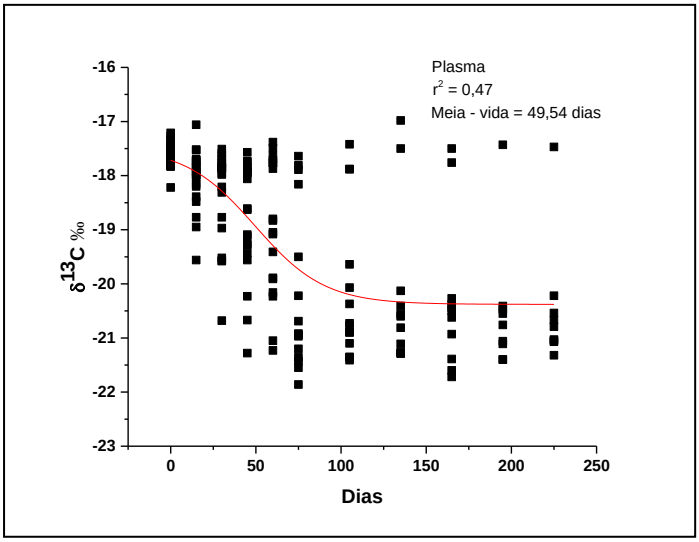
O mesmo foi encontrado para o plasma, houve diferença a partir dos 45 dias sendo que o carbono passou a ficar mais empobrecido até o final do experimento (Plasma $\delta^{13}C$: F = 15,84; df = 10; p = 0,001) (Tabela 7, Figura 11).

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	25	-17,63[a]	0,23
15	22	-18,04[a]	0,54
30	21	-18,32[a]	0,86
45	20	-18,78[b]	1,06
60	18	-18,96[b]	1,25
75	15	-20,14[b]	1,52
105	14	-20,12[b]	1,39
135	11	-20,18[b]	1,51
165	11	-20,28[b]	1,41
195	9	-20,51[b]	1,21
PD2	9	-20,46[b]	1,17

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 11 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C do plasma dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae*



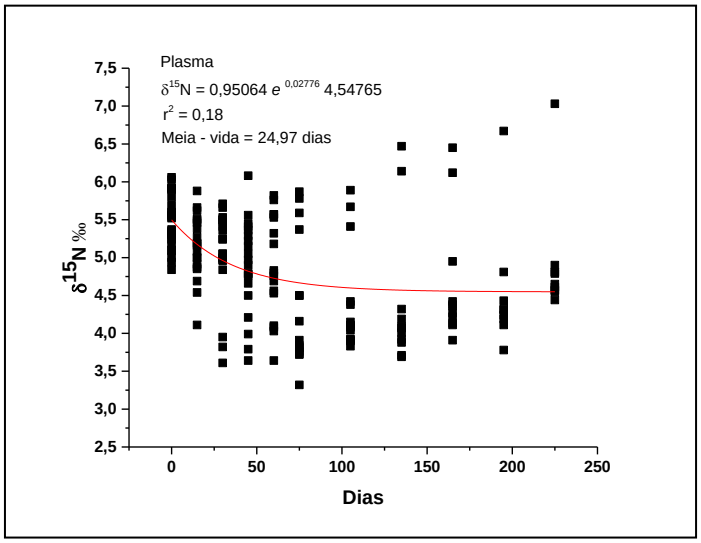
Após, 60 dias a composição isotópica do nitrogênio apresentou diferença, ficando mais leve em relação ao valor isotópico inicial do experimento, voltando a enriquecer e ficar similar ao início da amostragem no período PD2 (225 dias). Apontando novamente o estado de jejum prolongado dos animais, refletindo sua reserva como fonte de recurso nessa fase (Plasma $\delta^{15}N$: $F = 4,92$; $df = 10$; $p < 0,001$) (Tabela 8, Figura 12).

Tabela 8 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma de juvenis de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	25	5,48[a]	0,36
15	20	5,14[a]	0,42
30	20	5,06[a]	0,61
45	20	4,88[a]	0,62
60	17	4,97[a]	0,67
75	15	3,57[b]	0,42
105	14	4,38[b]	0,85
135	11	4,42[b]	0,70
165	11	4,41[b]	0,96
195	9	4,54[b]	0,84
PD2	9	4,93[a]	0,27

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 12 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N do plasma dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae*



Os teiús juvenis apresentaram duas curvas distintas, o ajuste de curva para o ^{13}C tanto das células vermelhas quanto do plasma foi o modelo sigmoidal *Boltzmann*, isso ocorreu devido ao tempo de resposta à nova dieta ser mais lento para alguns indivíduos do protocolo experimental. O nitrogênio das células vermelhas e do plasma ao contrário do carbono, apontaram curva exponencial, mesmo com a presença dos lagartos que demoraram para responder a nova dieta (Tabela 9).

Tabela 9 - Equações das taxas de *turnover*, valores calculados de meia-vidas (dias), 99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merian*ae juvenis

Indivíduos	**Carbono**	**Nitrogênio**
Células Vermelhas	$\delta^{13}C = -21{,}2639 + \frac{18{,}3181}{1 + e^{\frac{t-84{,}7910}{35{,}3952}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}4847 + 0{,}5794e^{-0{,}0137t}$
Plasma	$\delta^{13}C = -20{,}3788 + \frac{17{,}4801}{1 + e^{\frac{t-49{,}5414}{20{,}4651}}}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}5477 + 0{,}9506e^{-0{,}0278t}$

Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
Meia-vida (dias)			
84,79	50,45	49,54	24,97
Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)			
593,53	353,15	346,78	174,79
Células vermelhas $\Delta^{13}C$	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
***Fator de discriminação isotópico (‰) - * $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**			
1,75	3,17	2,63	4,24

*** $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**

Alguns lagartos juvenis não modificaram sua composição isotópica do $\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$ para células vermelhas e nem para o plasma entre os períodos amostrados. Mantiveram-com o patamar isotópico similar ao início do experimento. A fim de reduzir esse problema, foi retirado esses indivíduos. As Tabelas 10, 11, 12 e 13 apontam os valores médios e o tempo de sobrevivência desses animais durante o período amostrado.

Tabela 10 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas dos juvenis de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Células vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
3	75	-18,55	0,15
28	60	-18,49	0,11
36	60	-18,76	0,29
10	75	-19,00	0,68
2	75	-18,85	0,93
19	60	-19,11	0,63
20	45	-19,11	0,70
24	195	-18,70	0,08
41	105	-18,91	0,67
18	135	-18,76	0,16
27	105	-19,43	1,24

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 11 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas dos juvenis de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Células vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
3	75	4,00	0,20
28	60	4,25	0,20
36	60	3,93	0,15
10	75	3,88	0,41
2	75	4,22	0,20
19	60	3,84	0,14
20	45	3,84	0,33
24	195	4,02	0,28
41	105	4,14	0,31
18	135	3,79	0,19
27	105	3,82	0,32

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 12 - Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma dos juvenis de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
3	75	-17,77	0,19
28	60	-17,37	0,20
36	60	-18,26	0,66
10	75	-18,69	1,25
2	75	-17,53	0,33
19	60	-18,41	1,10
20	45	-18,93	1,46
24	195	-17,68	0,22
41	105	-18,71	1,21
18	135	-17,81	0,16
27	105	-19,24	1,72

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 13 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma dos juvenis de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
3	75	5,46	0,25
28	60	5,88	0,17
36	60	4,88	0,21
10	75	4,70	0,47
2	75	5,75	0,38
19	60	5,36	0,46
20	45	5,18	0,77
24	195	5,85	0,62
41	105	4,79	0,56
18	135	5,50	0,40
27	105	5,03	0,83

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Após a retirada dos indivíduos juvenis que não responderam o experimento foi realizado uma análise completa como feito anteriormente. Essa análise levou em consideração a massa corpórea, análises isotópicas e ajustes de curvas somente com os nove lagartos que responderam o experimento. As massas corpóreas dos indivíduos juvenis variaram como o esperado durante o experimento, apresentando diferença significativa em relação ao início do experimento a

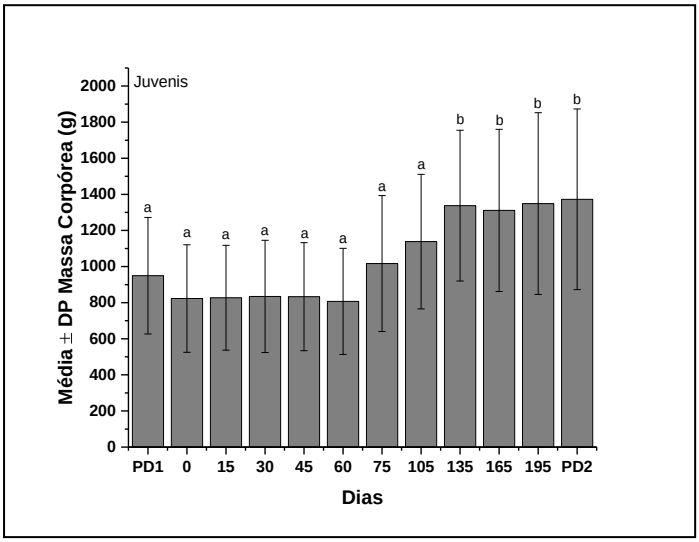
partir, de 135 dias similar à análise anterior com todos os indivíduos. Esse período corresponde quando a espécie aponta a taxa metabólica mais baixa (F = 3,47; df = 11; p < 0,001) (Tabela 14, Figura 13).

Tabela 14 - Valores médios e desvio padrão da massa corpórea de juvenis de *S. merianae* (n=9) durante o ciclo sazonal anual

Massa corpórea (g)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	9	949,44[a]	322,67
0	9	822,89[a]	297,90
15	9	827,33[a]	290,19
30	9	834,56a	310,85
45	9	833,22[a]	299,28
60	9	807,11[a]	294,08
75	9	1016,67[a]	376,54
105	9	1138,33[a]	372,60
135	9	1337,44[b]	417,27
165	9	1311,11[b]	449,34
195	8	1348,88[b]	503,38
PD2	8	1372,75[b]	500,37

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Fisher (p < 0,05).

Figura 13 - Média e desvio padrão da massa corpórea de indivíduos juvenis (n = 9) de *S. merianae*



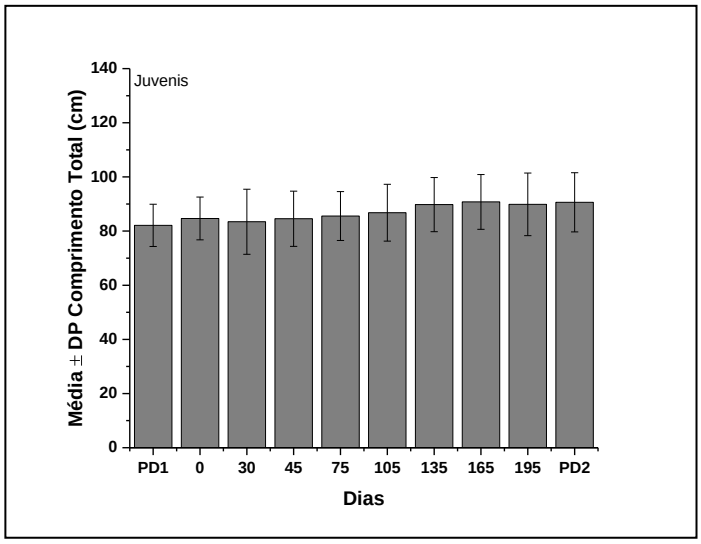
Porém, o comprimento total não apresentou diferença estatística entre os períodos amostrados (F = 0,89; df = 9; p = 0,535) (Tabela 15, Figura 14).

Tabela 15 - Valores médios e desvio padrão do comprimento total de juvenis de *S. merianae* (n = 9) durante o ciclo sazonal anual

Comprimento Total (cm)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	9	82,11	7,80
0	9	84,67	7,90
30	9	83,44	12,01
45	9	84,56	10,19
75	9	85,56	9,01
105	9	86,78	10,49
135	9	89,78	10,00
165	9	90,78	10,12
195	8	89,88	11,54
PD2	8	90,63	10,94

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).

Figura 14 - Média e desvio padrão do comprimento total de indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*



Os nove teiús juvenis apresentaram variação entre os períodos amostrados nas composições isotópicas do carbono para as células vermelhas, apresentando o empobrecimento do carbono, esperado pela introdução da nova dieta a partir de 75 dias após o início do experimento, diferente da análise anterior com todos os indivíduos começando a apontar a diferença somente a partir de 105 dias. (Células vermelhas $\delta^{13}C$: F = 35,76; df = 10; p = 0,001) (Tabelas 16, Figura 15). A composição isotópica do nitrogênio também foi um pouco diferente no tempo, porém seguiu o mesmo padrão da análise anterior, no entanto, não voltou a enriquecer no final. A mudança do $\delta^{15}N$ ocorreu em 45 dias após o início do protocolo experimental, entretanto, aos 60 dias retornou enriquecer novamente, empobrecendo aos 75 dias se mantendo assim, até o final do experimento (Células vermelhas $\delta^{15}N$: F = 9,33; df = 10; p < 0,001) (Tabela 17, Figura 16).

Tabela 16 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas de juvenis (n = 9) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	9	-18,60[a]	0,17
15	9	-18,44[a]	0,27
30	9	-18,99[a]	0,37
45	9	-19,25[a]	0,70
60	9	-19,32[a]	0,77
75	9	-20,00[b]	0,84
105	9	-20,45[b]	0,66
135	9	-20,90[b]	0,55
165	9	-21,30[b]	0,42
195	8	-21,45[b]	0,37
PD2	8	-21,48[b]	0,42

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 15 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C das células vermelhas dos indivíduos juvenis (n =9) de *S. merianae*

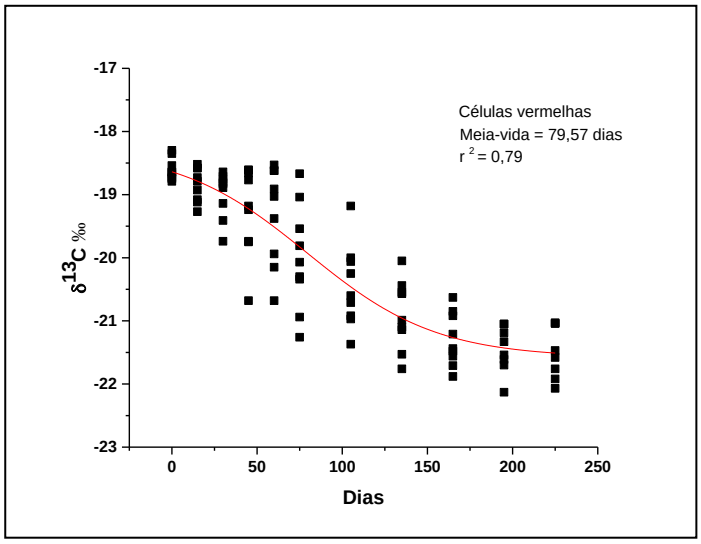
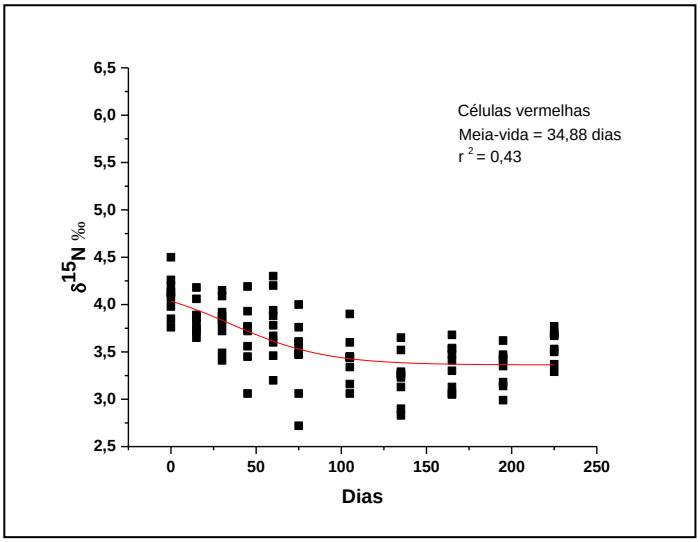


Tabela 17 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas de juvenis (n = 9) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	9	4,10[a]	0,22
15	9	3,86[a]	0,17
30	9	3,81[a]	0,25
45	9	3,69[b]	0,31
60	9	3,78[a]	0,35
75	9	3,47[b]	0,38
105	9	3,43[b]	0,24
135	9	3,23[b]	0,26
165	9	3,35[b]	0,23
195	8	3,33[b]	0,21
PD2	8	3,57[b]	0,17

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 16 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N das células vermelhas dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*



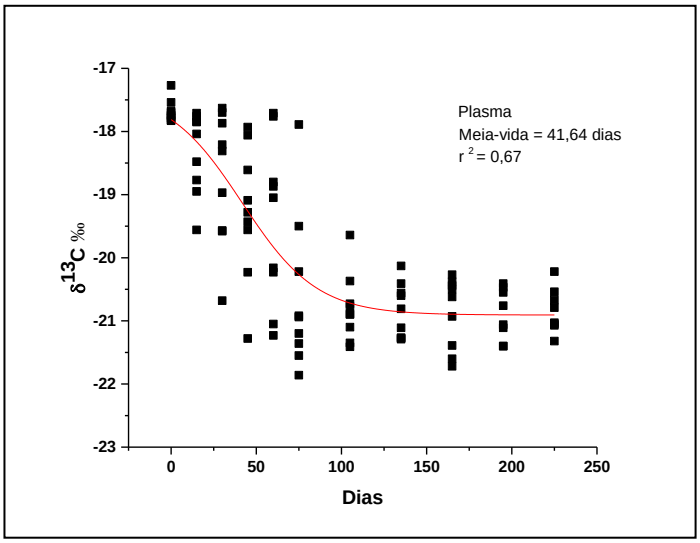
A $\delta^{13}C$ do plasma dos noves teiús juvenis foi semelhante ao apresentado quando os indivíduos que não responderam o experimento estavam incluídos. O carbono começou a mudar seu valor de forma distinta a partir, dos 45 dias mantendo-se assim, até o final do experimento (Plasma $\delta^{13}C$: F = 19,65; df = 10; p = 0,001) (Tabela 18, Figura 17).

Tabela 18 - Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma de juvenis (n = 9) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	9	-17,68[a]	0,18
15	9	-18,33[a]	0,70
30	9	-18,73[a]	1,05
45	9	-19,27[b]	1,05
60	9	-19,43[b]	1,31
75	9	-20,60[b]	1,24
105	9	-20,80[b]	0,54
135	9	-20,83[b]	0,43
165	9	-20,87[b]	0,56
195	8	-20,90[b]	0,40
PD2	8	-20,84[b]	0,35

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 17 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C do plasma dos indivíduos juvenis (n = 9) de *S. merianae*



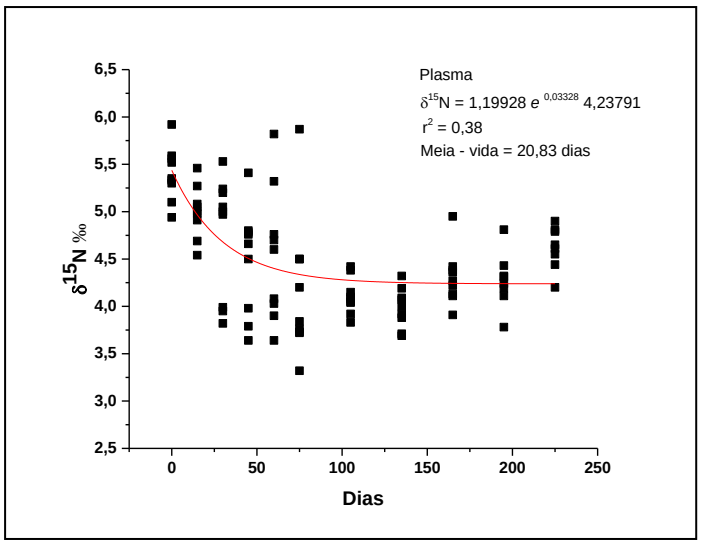
A composição isotópica do nitrogênio foi diferente, sua mudança ocorreu anteriormente, aos 45 dias, e o seu valor se manteve similar até o final da amostragem (Plasma $\delta^{15}N$: F = 7,54; df = 10; p < 0,001) (Tabela 19, Figura 18).

Tabela 19 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma de juvenis (n = 9) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	9	5,40[a]	0,29
15	9	5,00[a]	0,28
30	9	4,75[a]	0,65
45	9	4,48[b]	0,57
60	9	4,54[b]	0,71
75	9	4,16[b]	0,75
105	9	4,11[b]	0,19
135	9	3,99[b]	0,21
165	9	4,31[b]	0,29
195	8	4,27[b]	0,29
PD2	8	4,62[b]	0,23

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 18 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N do plasma dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*



Os teiús juvenis apresentaram duas curvas distintas, o ajuste de curva para o ^{13}C tanto das células vermelhas quanto do plasma foi o modelo sigmoidal *Boltzmann*, devido ao tempo de resposta de alguns dos lagartos em relação à nova dieta que ocorreu lentamente como aconteceu anteriormente. O ^{15}N das células vermelhas e do plasma, ao contrário do carbono, apontou curva exponencial, ambos semelhantes quando todos os indivíduos estavam inseridos no experimento (Tabela 20).

Tabela 20 - Equações das taxas de *turnover*, valores calculados de meia-vidas (dias), 99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merian*ae juvenis (n=9)

Indivíduos	**Carbono**	**Nitrogênio**
Células Vermelhas	$\delta^{13}C = -21{,}5800 + \frac{18{,}2763}{1+e^{\frac{t-79{,}5696}{37{,}9920}}}$	$\delta^{15}N = 3{,}3623 + \frac{4{,}2304}{1+e^{\frac{t-34{,}9750}{28{,}0283}}}$
Plasma	$\delta^{13}C = -20{,}9073 + \frac{173453}{1+e^{\frac{t-41{,}6372}{22{,}0024}}}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}2379 + 1{,}1993e^{-0{,}0333t}$

Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
Meia-vida (dias)			
79,57	34,88	41,64	20,83
Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)			
556,99	244,16	290,22	145,81
Células vermelhas $\Delta^{13}C$	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
***Fator de discriminação isotópico (‰)**			
1,43	3,05	2,10	3,93

*** $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**

4.4. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis de *Salvator merianae*

Devido a variação na resposta à nova dieta do experimento que os indivíduos juvenis apresentaram, foi realizado a análise de ajuste de curva da taxa de *turnover* individualmente. A Tabela 21, explicita os respectivos modelos matemáticos que foram utlizados para ajustar as curvas que cada indíviduo apresentou para ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas.

Tabela 21 - Equações das taxas de *turnover* do carbono e nitrogênio das células vermelhas de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	Carbono	Nitrogênio
1	$\delta^{13}C = -0{,}0163 - 18{,}5240x$	$\delta^{15}N(t) = 2{,}5600 + 1{,}5093e^{-0{,}0045t}$
4	$\delta^{13}C = -21{,}6728 + \frac{18{,}5751}{1 + e^{\frac{t-90{,}5103}{23{,}7639}}}$	$\delta^{15}N = 3{,}2435 + \frac{3{,}8460}{1 + e^{\frac{t-68{,}2889}{15{,}0130}}}$
6	$\delta^{13}C = -21{,}0660 + \frac{18{,}6024}{1 + e^{\frac{t-129{,}3871}{19{,}5417}}}$	$\delta^{15}N = 3{,}6538 + \frac{4{,}1925}{1 + e^{\frac{t-96{,}2353}{16{,}6919}}}$
7	$\delta^{13}C(t) = -22{,}1763 + 3{,}9123e^{-0{,}0123t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}0442 + 1{,}2087e^{-0{,}0324t}$
11	$\delta^{13}C(t) = -22{,}2310 + 3{,}6728e^{-0{,}0088t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}4442 + 0{,}6805e^{-0{,}0315t}$
16	$\delta^{13}C = -20{,}9033 + \frac{18{,}7440}{1 + e^{\frac{t-97{,}1952}{10{,}6919}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}4505 + 0{,}5339e^{-0{,}0139t}$
31	$\delta^{13}C(t) = -22{,}1641 + 3{,}7986e^{-0{,}0165t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}0799 + 1{,}4288e^{-0{,}0553t}$
39	$\delta^{13}C = -21{,}1686 + \frac{18{,}2456}{1 + e^{\frac{t-92.2166}{32{,}0817}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}2109 + 0{,}6850e^{-0{,}0056t}$
43	$\delta^{13}C = -21{,}1474 + \frac{18{,}7286}{1 + e^{\frac{t-71{,}4245}{6{,}3158}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}4227 + 0{,}7358e^{-0{,}0108t}$

Ao contrário, das células vermelhas, os juvenis apontaram somente dois tipos de modelos matemáticos (sigmoidal - *Boltzmann* e exponencial) para o ajuste de curva da taxa de *turnover* para o ^{13}C e ^{15}N do plasma (Tabela 22).

Tabela 22 - Equações das taxas de *turnover* do carbono e nitrogênio do plasma de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	Carbono	Nitrogênio
1	$\delta^{13}C(t) = -22{,}3246 + 4{,}7292e^{-0{,}0123t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}9287 + 1{,}1922e^{-0{,}0192t}$
4	$\delta^{13}C(t) = -21{,}6675 + 4{,}2070e^{-0{,}0113t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}0452 + 1{,}5073e^{-0{,}0200t}$
6	$\delta^{13}C = -20{,}4570 + \frac{17{,}7916}{1 + e^{\frac{t-98{,}6449}{8{,}3763}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}2028 + 2{,}4576e^{-0{,}0036t}$
7	$\delta^{13}C(t) = -20{,}6751 + 3{,}1761e^{-0{,}0345t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}8916 + 1{,}6958e^{-0{,}0809t}$
11	$\delta^{13}C(t) = -20{,}9194 + 3{,}0841e^{-0{,}0438t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}1621 + 1{,}2468e^{-0{,}0706t}$
16	$\delta^{13}C = -20{,}3424 + \frac{17{,}7717}{1 + e^{\frac{t-65{,}2735}{10{,}8745}}}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}3608 + 1{,}3816e^{-0{,}0272t}$
31	$\delta^{13}C(t) = -21{,}4782 + 4{,}3475e^{-0{,}0496t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}0529 + 1{,}8936e^{-0{,}0999t}$
39	$\delta^{13}C(t) = -22{,}0919 + 4{,}8623e^{-0{,}0107t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}0082 + 1{,}2478e^{-0{,}0145t}$
43	$\delta^{13}C = -20{,}9177 + \frac{17{,}5627}{1 + e^{\frac{t-56{,}0552}{14{,}9138}}}$	$\delta^{15}N = 4{,}4869 + \frac{5{,}2489}{1 + e^{\frac{t-46{,}3225}{10{,}6318}}}$

Após realizar todos os ajustes individualmente foi calculado para as células vermelhas e o plasma as meia-vidas, 99% de carbono e nitrogênio substituído e o fator de discriminação isotópico para cada indivíduo (Tabela 23).

Tabela 23 - Valores calculados de meia-vidas (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta de *Salvator merian*ae juvenis

Indivíduos	**Células vermelhas $\delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
		Meia-vida (dias)		
1	-	154,03	56,17	36,18
4	90,51	68,29	61,39	34,74
6	129,39	96,24	98,65	195,54
7	56,30	21,39	20,07	8,57
11	79,13	22,00	15,83	68,74
16	97,20	49,90	65,27	25,52
31	42,03	12,53	13,97	6,94
39	92,22	12,42	64,60	47,84
43	71,42	64,06	56,06	46,32
Indivíduos	**Células vermelhas $\delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
		99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)		
1	-	1078,21	393,19	253,26
4	633,57	478,03	429,73	243,18
6	905,73	673,68	690,55	1368,78
7	394,10	149,73	140,49	59,99
11	553,91	154,00	110,81	68,74
16	680,40	349.30	456,89	178,64
31	294,21	87,71	97,79	48,58
39	645,54	86,94	452,20	334,88
43	499,94	448,42	392,42	324,24
Indivíduos	**Células vermelhas $\Delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
		Fator de discriminação (‰) - $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$		
1	-	2,25	0,69	3,62
4	1,34	3,54	1,33	3,73
6	1,94	3,34	2,55	2,15
7	0,83	2,73	2,33	3,58
11	0,78	3,13	2,09	3,85
16	2,11	3,14	2,67	4,05
31	0,85	2,77	1,53	3,74
39	1,84	2,90	0,92	3,70
43	1,86	3,11	2,09	4,18

A fim de uma melhor visualização foi realizado um conjunto de figuras que expressa a taxa de *turnover* para ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma para cada indivíduo. Nessas figuras são apresentados os valores de r^2 para cada curva ajustada e seu respectivo modelo matemático (Figuras 19 – 27).

Figura 19 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 1 de *Salvator merianae* juvenil

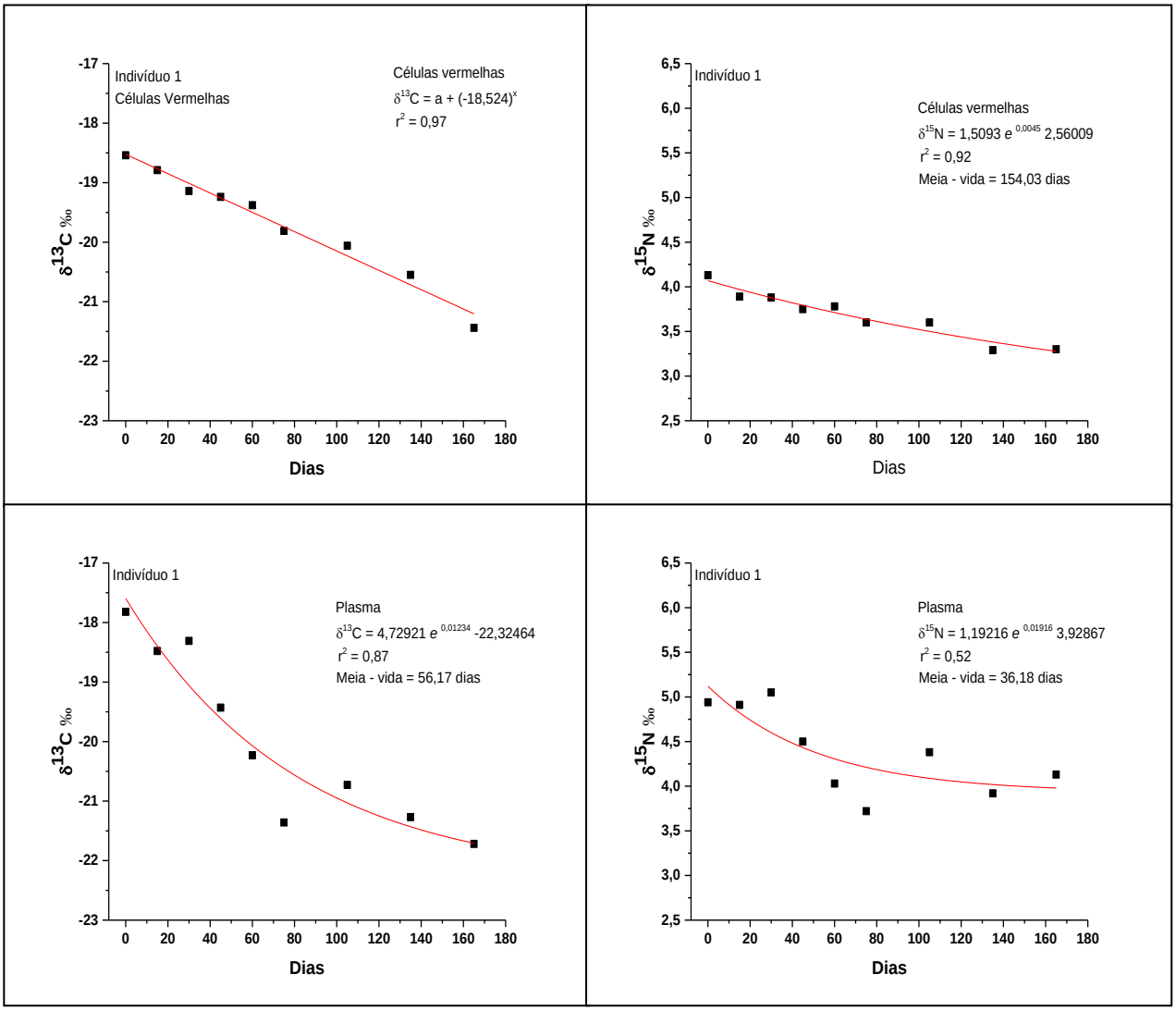


Figura 20 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 4 de *Salvator merianae* juvenil

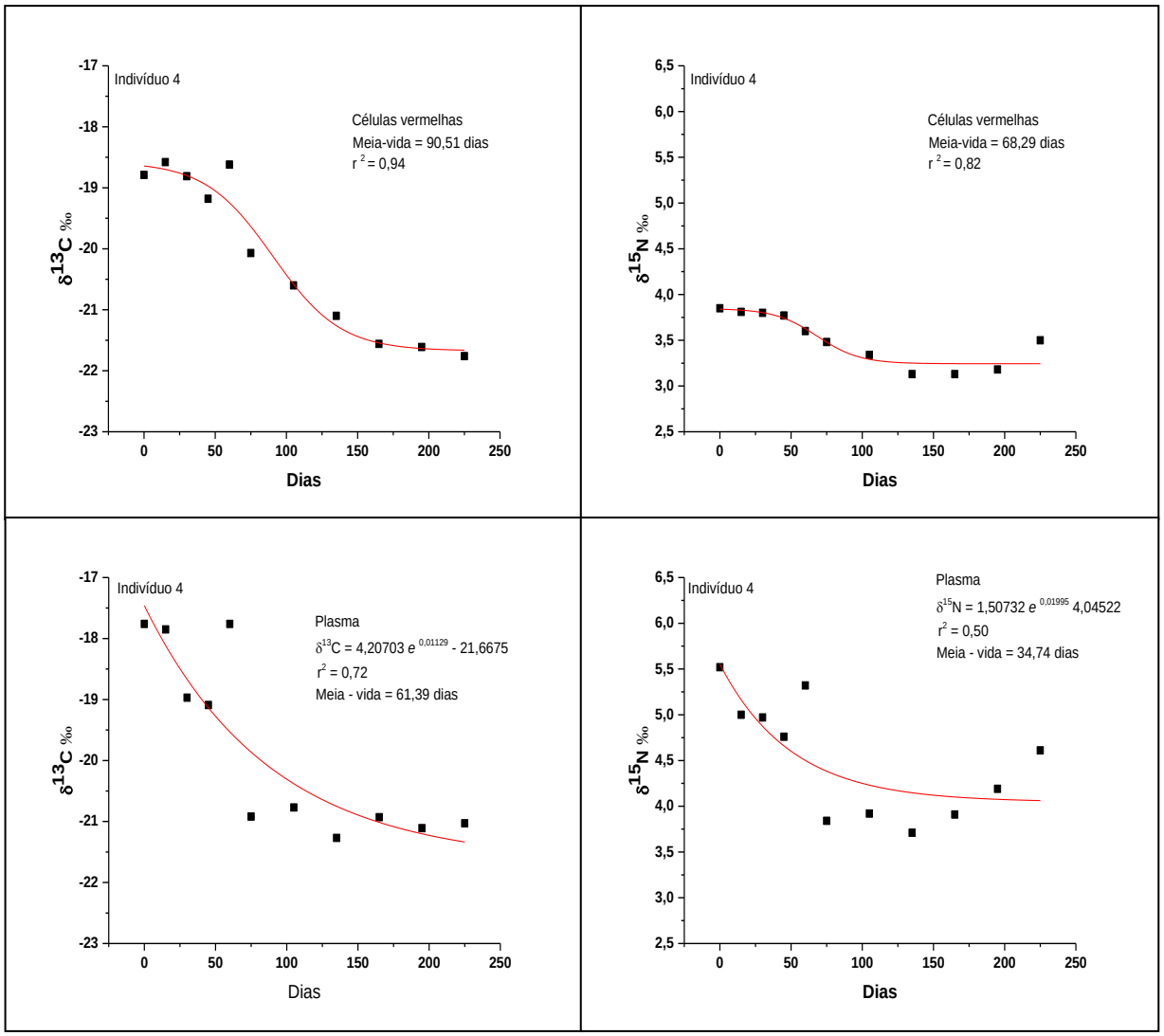


Figura 21 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 6 de *Salvator merianae* juvenil

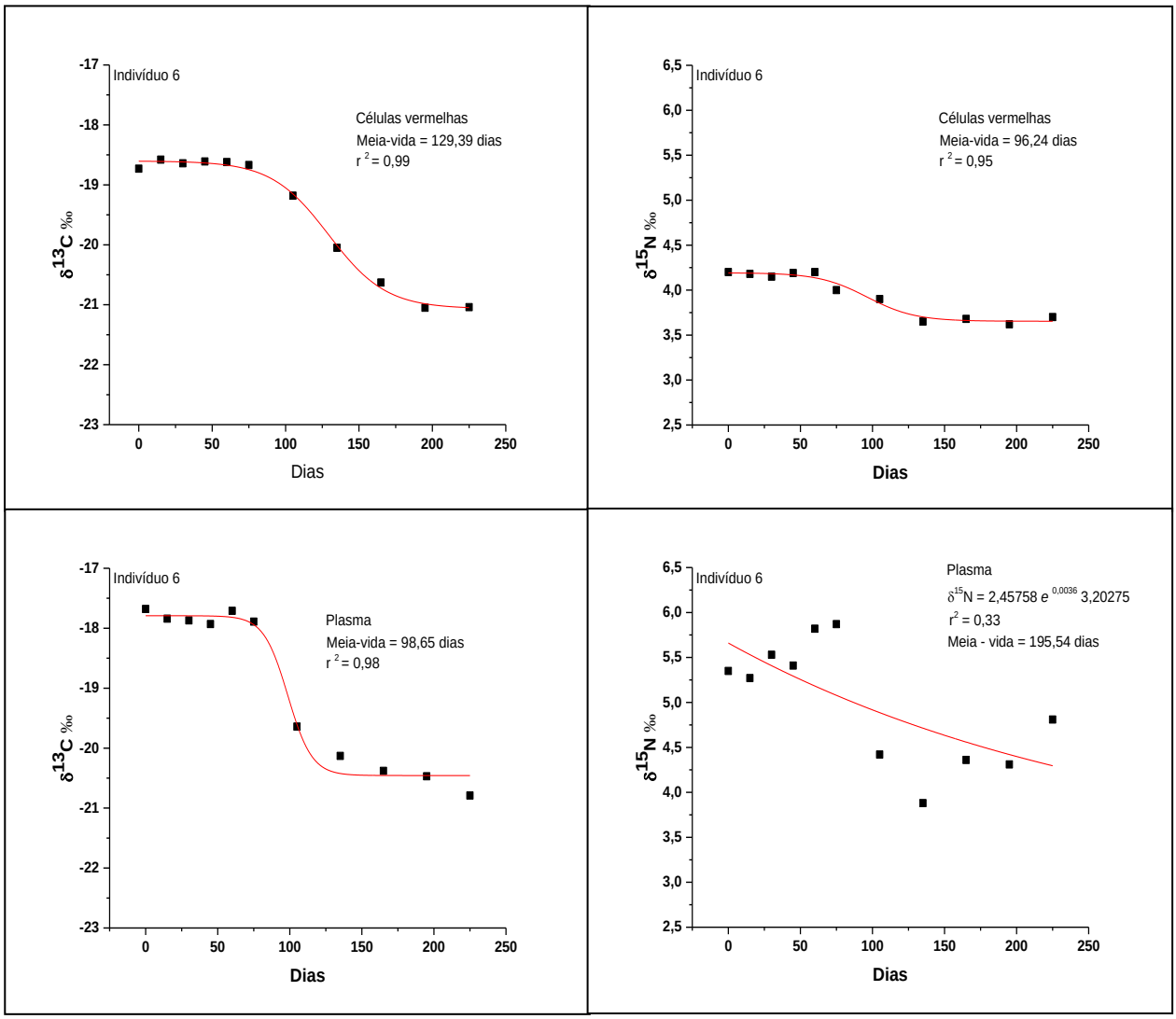


Figura 22 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 7 de *Salvator merianae* juvenil

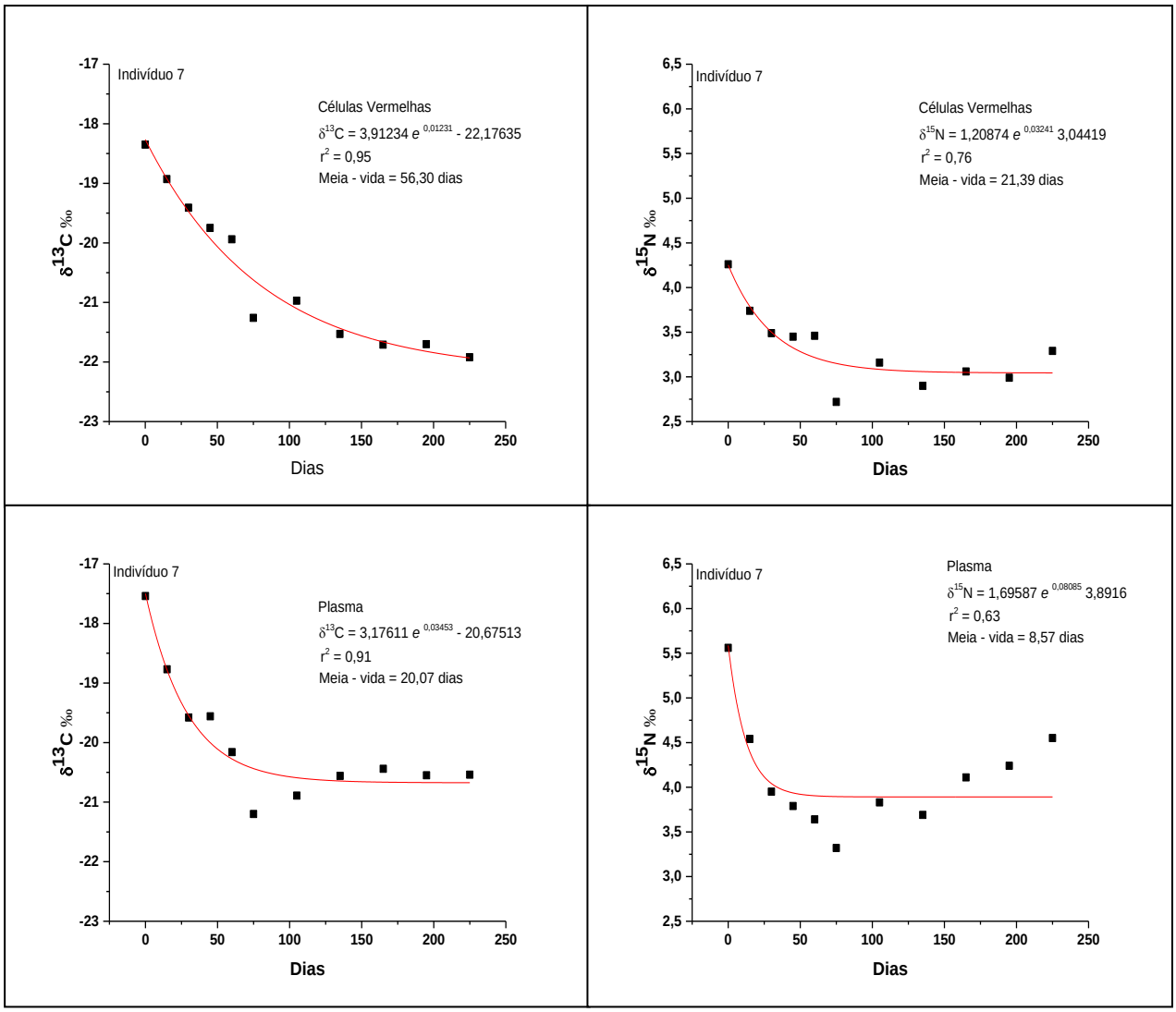


Figura 23 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 11 de *Salvator merianae* juvenil

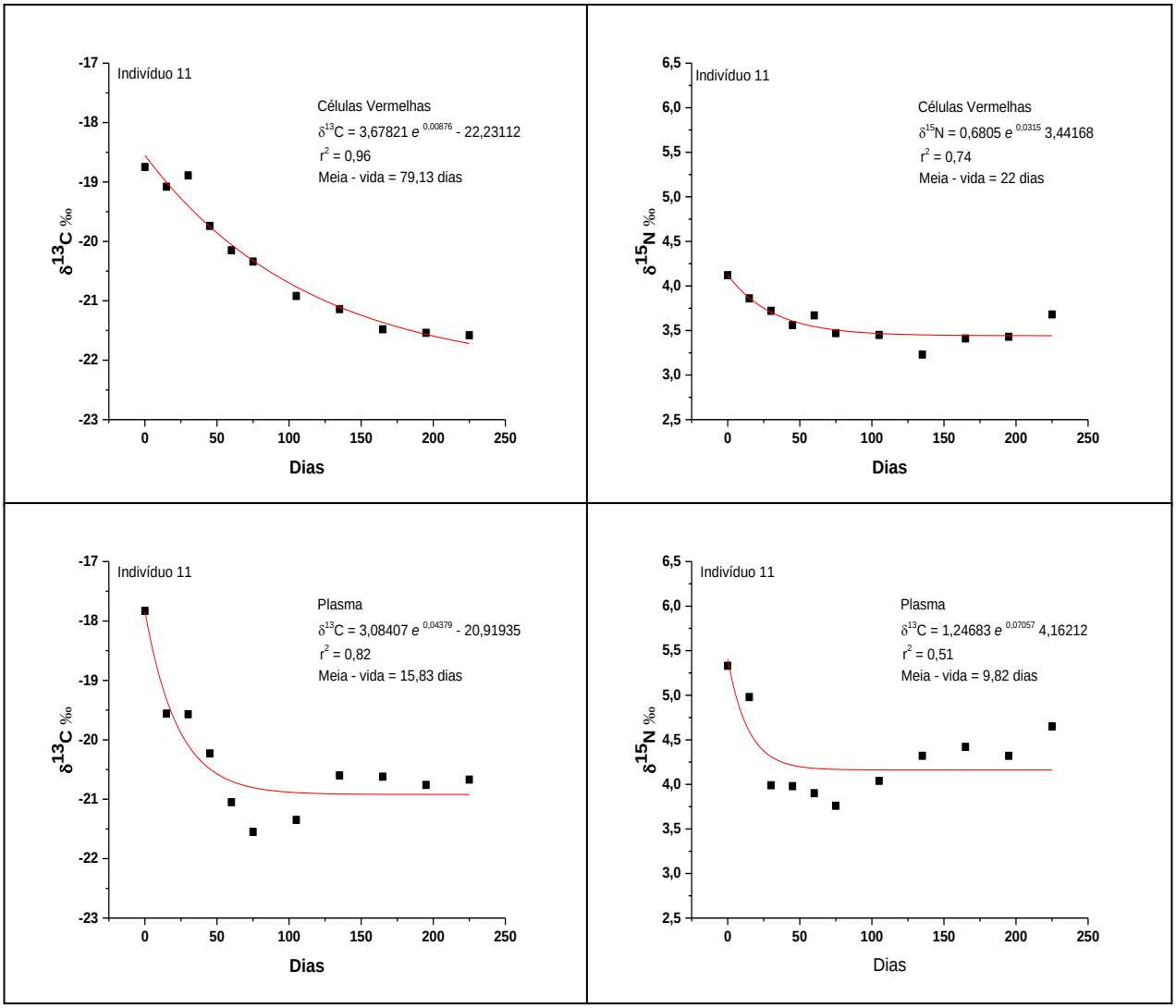


Figura 24 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 16 de *Salvator merianae* juvenil

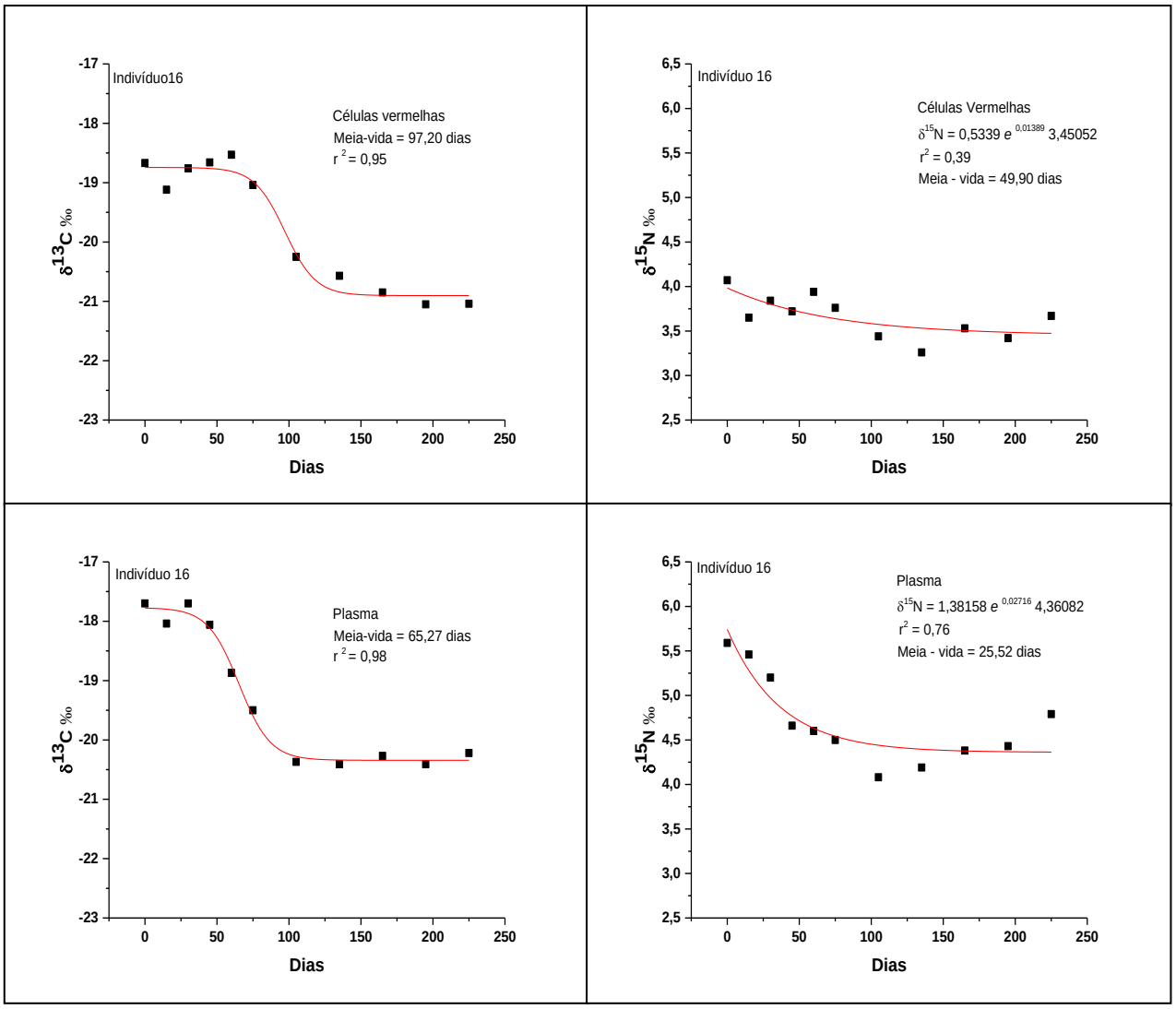


Figura 25 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 31 de *Salvator merianae* juvenil

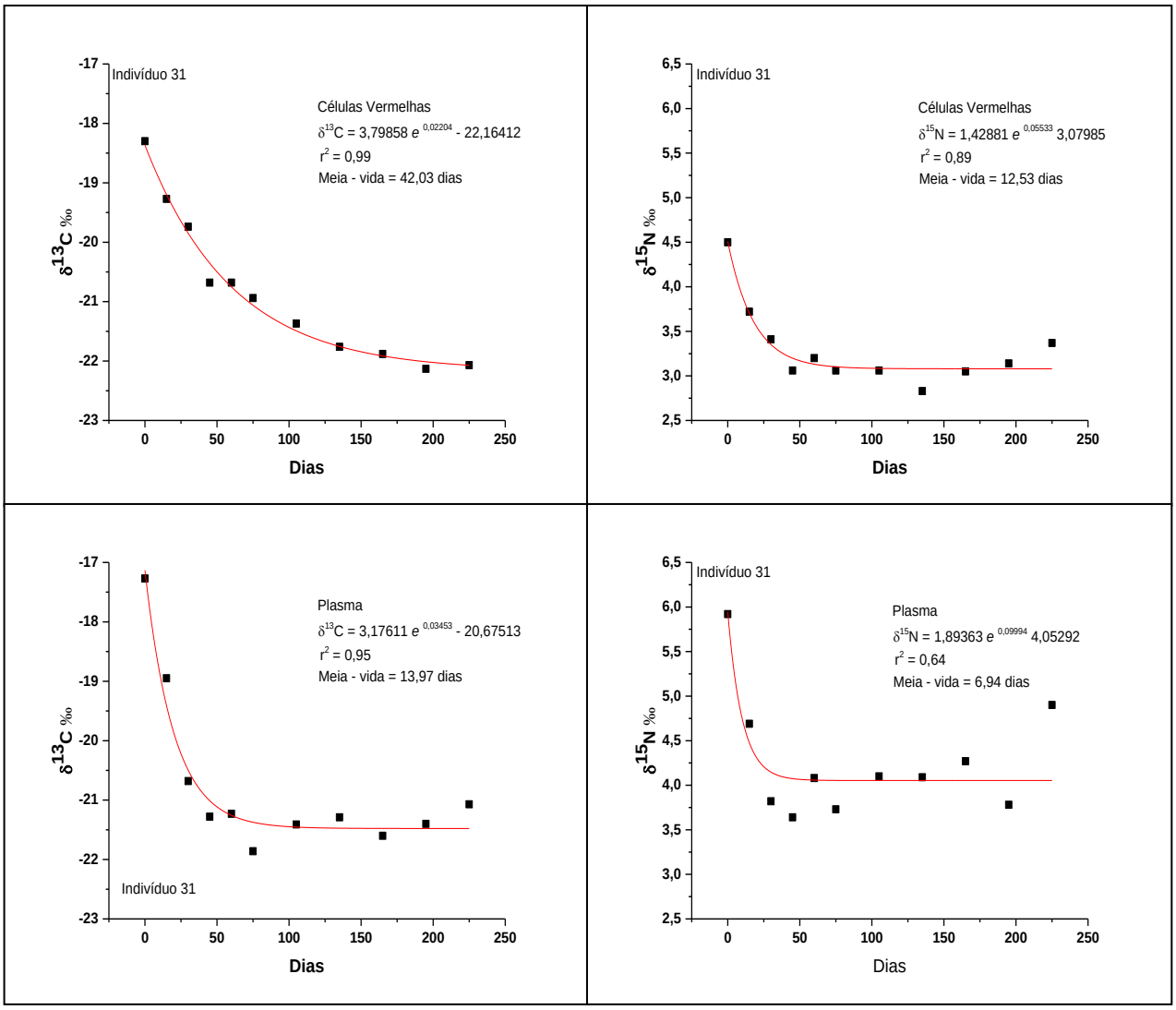


Figura 26 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 39 de *Salvator merianae* juvenil

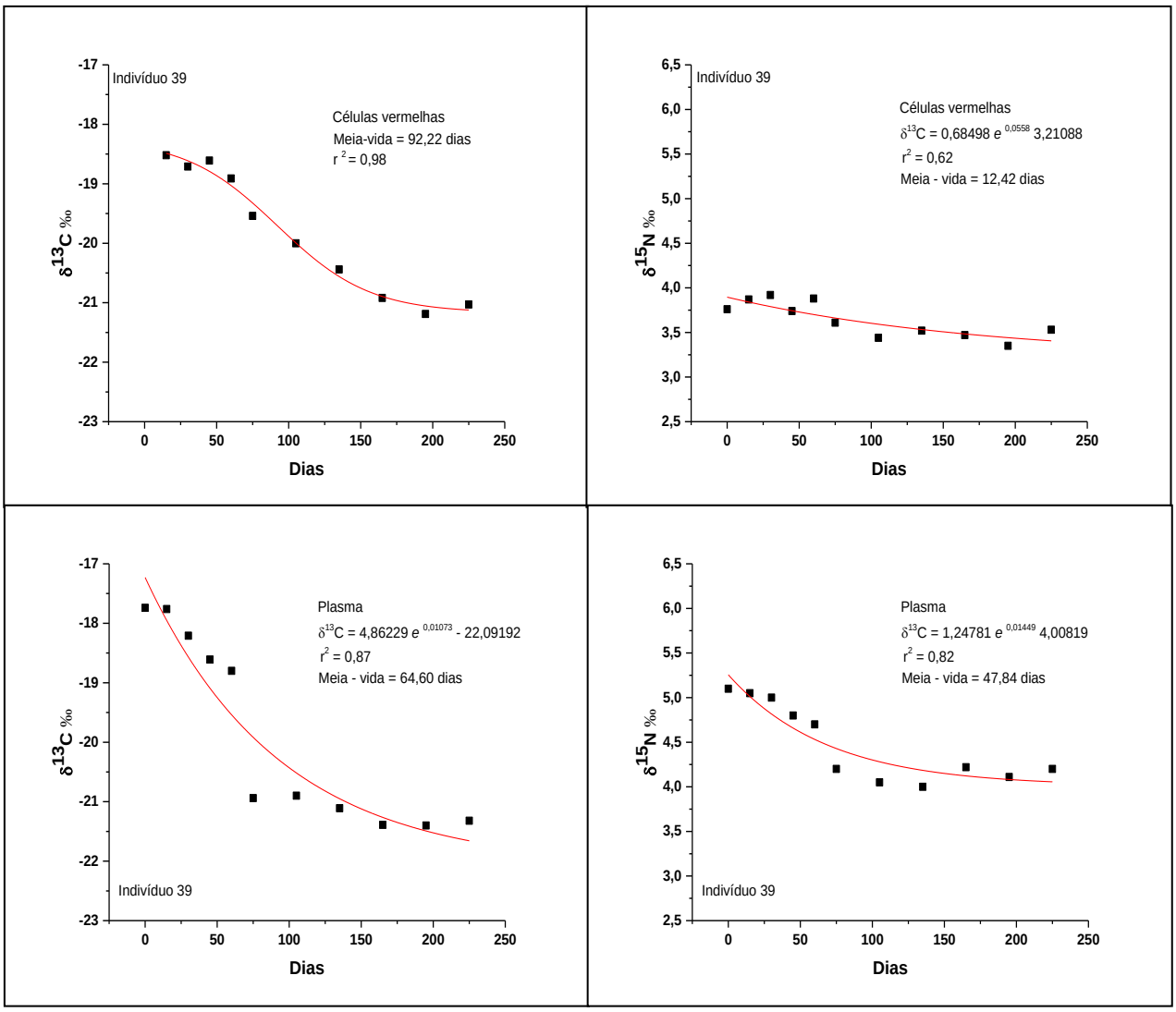
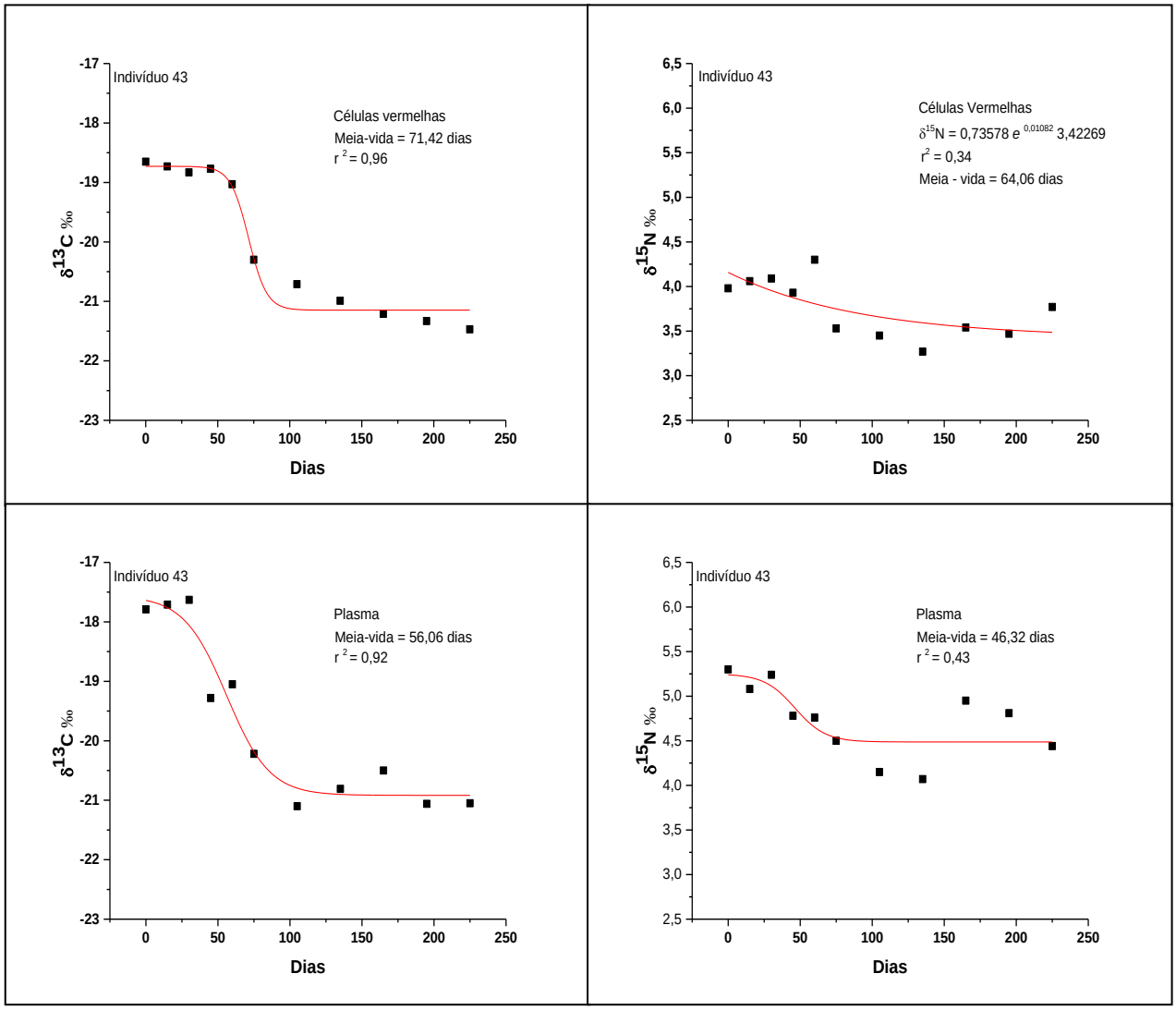


Figura 27 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 43 de *Salvator merianae* juvenil

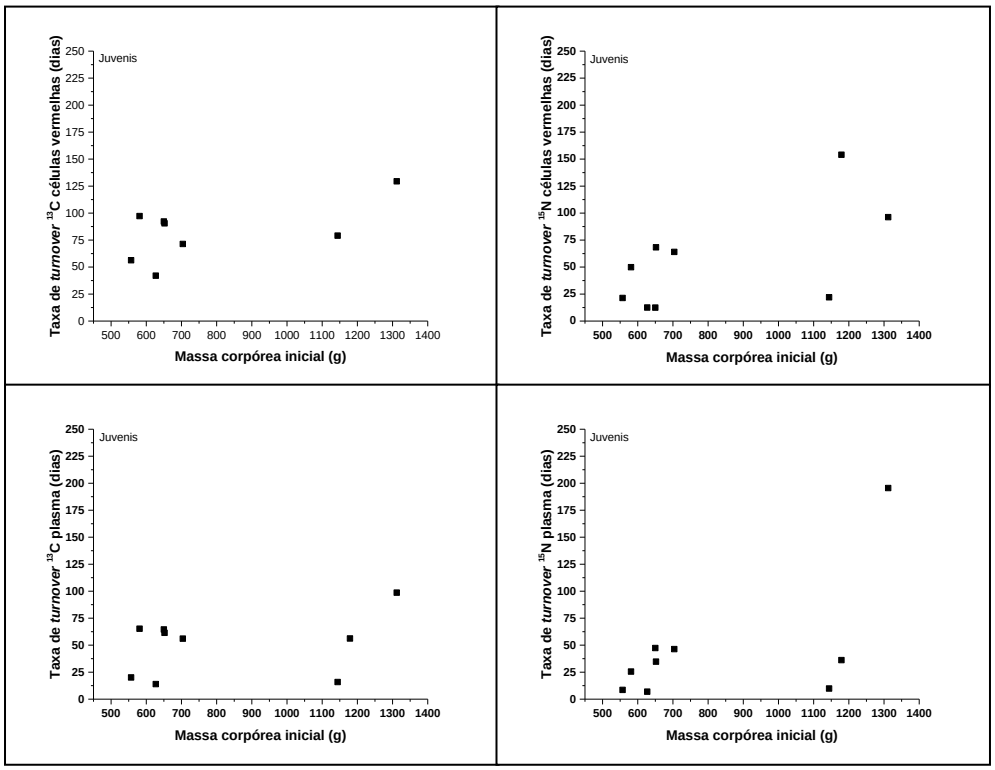


Com o propósito de testar uma possível influência da massa corpórea inicial na taxa de *turnover* e do fator de discriminação do carbono e nitrogênio foi efetuada a regressão linear. A Tabela 24 apresenta os valores da massa corpórea inicial e a taxa de *turnover* de cada indivíduo e os valores médios respectivos. Não houve relação significativa tanto para a taxa de *turnover* do ^{13}C quanto para ^{15}N das células vermelhas com a massa corpórea inicial (F = 3,16; p = 0,126; r^2 = 0,24) e (F = 3,98; p = 0,09; r^2 = 0,27). O mesmo ocorreu com a taxa de *turnover* do ^{13}C do plasma em relação à massa corpórea (F = 0,77; p = 0,410; r^2 = -0,03), no entanto, a taxa de turnover do ^{15}N em relação a massa corpórea inicial apresentou uma relação significativa (F = 3,76; p = 0,09; r^2 = 0,26) (Figura 28).

Tabela 24 - Massa corpórea inicial e taxa de turnover (dias) do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	Massa Corpórea inicial (g)	Células vermelhas $\delta^{13}C$ T_{50} dias	Células vermelhas $\delta^{15}N$ T_{50} dias	Plasma $\delta^{13}C$ T_{50} dias	Plasma $\delta^{15}N$ T_{50} dias
1	1179	-	154,03	56,17	36,18
4	652	90,51	68,29	61,39	34,74
6	1312	129,39	96,24	98,65	195,54
7	557	56,30	21,39	20,07	8,57
11	1144	79,13	22,00	15,83	9,82
16	581	97,20	49,90	65,27	25,52
31	627	42,03	12,53	13,97	6,94
39	650	92,22	12,42	64,50	47,34
43	704	71,42	64,06	56,06	46,32
014					
Média ± DP	**822,89 ± 297,90**	**82,28 ± 25,08**	**55,65 ± 44,25**	**50,21 ±26,62**	**52,21 ± 53,86**

Figura 28 - Regressão linear da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma e massa corpórea inicial dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*

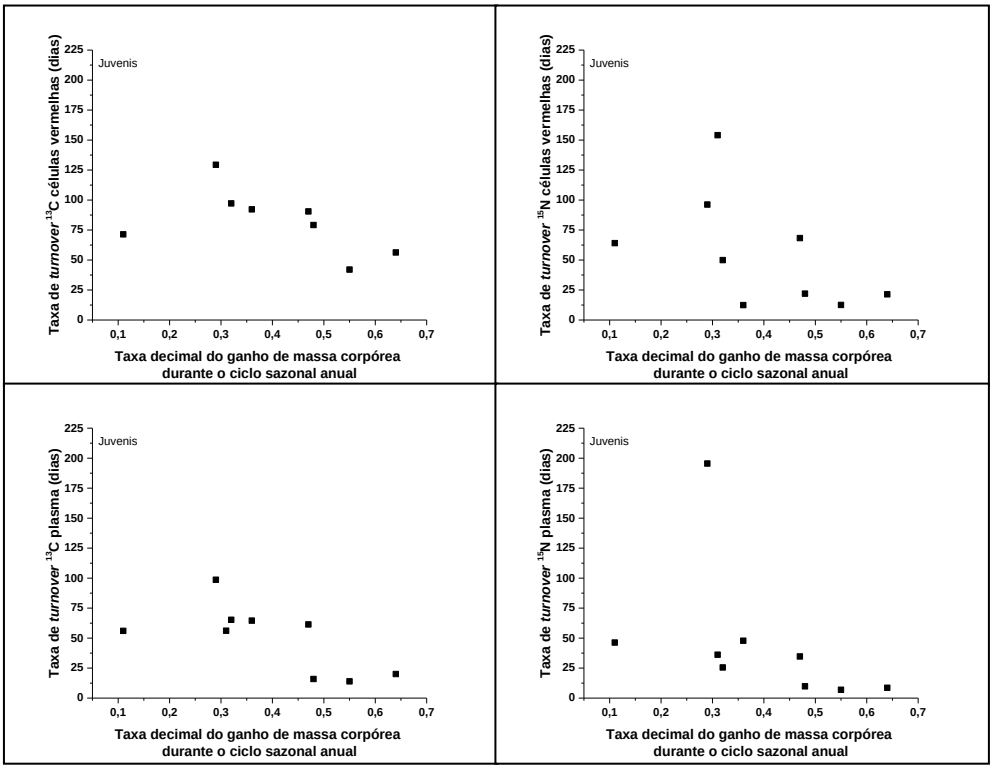


A fim de verificar se houve relação entre o índice corporal com a taxa de *turnover* foi realizada a regressão linear. A Tabela 25 apresenta os valores do índice biométrico e a taxa de *turnover* de cada indivíduo e os valores médios respectivos. Não houve relação significativa tanto para a taxa de *turnover* do ^{13}C quanto para ^{15}N das células vermelhas com a taxa de ganho de massa corpórea (F = 1,96; p = 0,211; r^2 = 0,12) e (F = 2,36; p = 0,168; r^2 = 0,14). O mesmo aconteceu com a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N do plasma em relação com a taxa de ganho de massa corpórea (F = 5,58; p = 0,051; r^2 = 0,36) e (F = 1,67; p = 0,237; r^2 = 0,07) (Figura 29).

Tabela 25 - Taxa de ganho decimal de massa corpórea e taxa de turnover (dias) do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	**ΔM_c**	**Células vermelhas $\delta^{13}C$ T_{50} dias**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$ T_{50} dias**	**Plasma $\delta^{13}C$ T_{50} dias**	**Plasma $\delta^{15}N$ T_{50} dias**
1	0,31	-	154,03	56,17	36,18
4	0,47	90,51	68,29	61,39	34,74
6	0,29	129,39	96,24	98,65	195,54
7	0,64	56,30	21,39	20,07	8,57
11	0,48	79,13	22,00	15,83	9,82
16	0,32	97,20	49,90	65,27	25,52
31	0,55	42,03	12,53	13,97	6,94
39	0,36	92,22	12,42	64,50	47,34
43	0,11	71,42	64,06	56,06	46,32
Média ± DP	**0,39 ± 0,14**	**82,28 ± 25,08**	**55,65 ± 44,25**	**50,21 ±26,62**	**52,21 ± 53,86**

Figura 29 - Regressão linear da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma e da taxa decimal de ganho de massa corpórea dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*

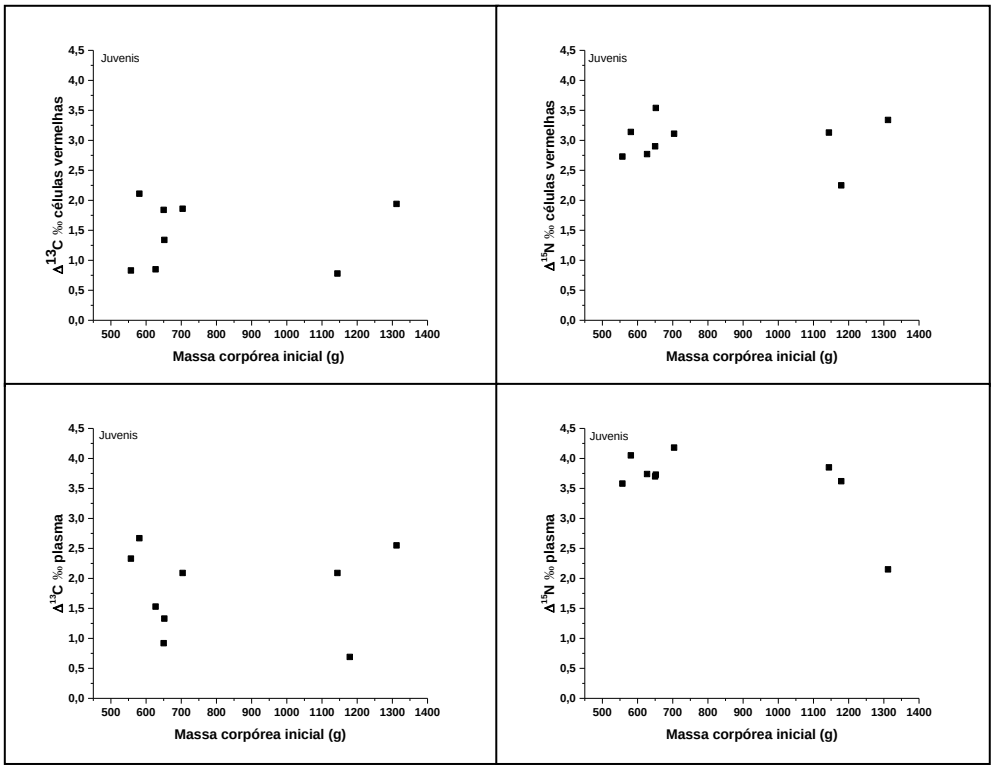


O mesmo tratamento foi realizado com a massa corpórea inicial e com o fator de discriminação isotópico. A Tabela 26 mostra os valores da massa corpórea inicial e dos fatores de discriminação isotópico de cada indivíduo e os valores médios respectivos. O fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas não apontou nenhuma relação com a massa corpórea inicial (F = 0,01; p = 0,920; r^2 = -0,16) e (F = 0,04; p = 0,856; r^2 = -0,14). O mesmo aconteceu com o $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ do plasma em relação à massa corpórea inicial (F = 0,01; p = 0,957; r^2 = -0,14) e (F = 4,30; p = 0,08; r^2 = 0,29) (Figura 30).

Tabela 26 - Massa corpórea inicial e fator de discriminação do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	Massa Corpórea inicial (g)	Células vermelhas $\Delta^{13}C$	Células vermelhas $\Delta^{15}N$	Plasma $\Delta^{13}C$	Plasma $\Delta^{15}N$
1	1179	-	2,25	0,69	3,62
4	652	1,34	3,54	1,33	3,73
6	1312	1,94	3,34	2,55	2,15
7	557	0,83	2,73	2,33	3,58
11	1144	0,78	3,13	2,09	3,85
16	581	2,11	3,14	2,67	4,05
31	627	0,85	2,77	1,53	3,74
39	650	1,84	2,90	0,92	3,70
43	704	1,86	3,11	2,09	4,18
Média ± DP	**822,89 ± 297,90**	**1,44 ± 0,52**	**2,99 ± 0,36**	**1,80 ± 0,67**	**3,62 ± 0,55**

Figura 30 - Regressão linear do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma e da massa corpórea inicial dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*

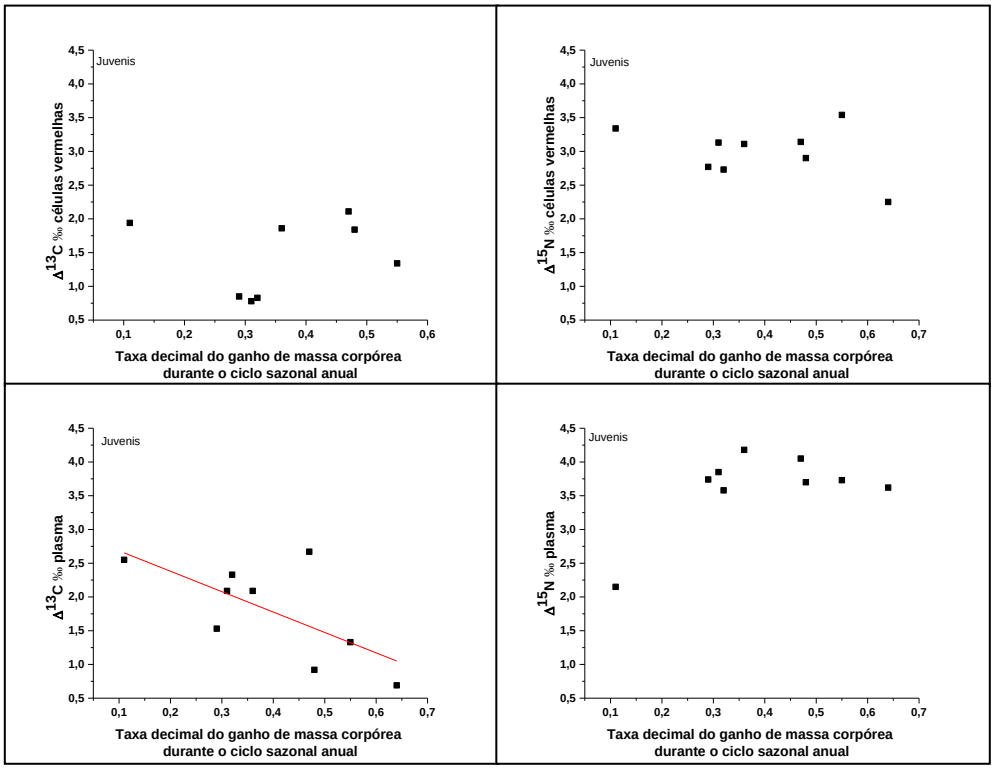


O mesmo procedimento foi executado para o índice corporal e fator de discriminação isotópico. A Tabela 27 mostra os valores do índice biométrico e dos fatores de discriminação isotópico de cada indivíduo e os valores médios respectivos. O fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas não apontou nenhuma relação com a taxa decimal do ganho de massa corpórea (F = 0,12; p = 0,740; r^2 = -0,14) e (F = 0,93; p = 0,367; r^2 = -0,01). Porém, o $\Delta^{13}C$ do plasma apresentou relação significativa com a taxa decimal do ganho de massa corpórea (F = 5,88; p = 0,04; r^2 = 0,38), no entanto o $\Delta^{15}N$ do plasma não mostrou nenhuma relação (F = 3,38; p = 0,109; r^2 = 0,23) (Figuras 31).

Tabela 27 - Taxa de ganho decimal de massa corpórea e fator de discriminação do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* juvenis

Indivíduos	**ΔM_c**	**Células vermelhas $\Delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
1	0,31	-	2,25	0,69	3,62
4	0,47	1,34	3,54	1,33	3,73
6	0,29	1,94	3,34	2,55	2,15
7	0,64	0,83	2,73	2,33	3,58
11	0,48	0,78	3,13	2,09	3,85
16	0,32	2,11	3,14	2,67	4,05
31	0,55	0,85	2,77	1,53	3,74
39	0,36	1,84	2,90	0,92	3,70
43	0,11	1,86	3,11	2,09	4,18
Média ± DP	**0,39 ± 0,14**	**1,44 ± 0,52**	**2,99 ± 0,36**	**1,80 ± 0,67**	**3,62 ± 0,55**

Figura 31 - Regressão linear do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma e da taxa decimal de ganho de massa corpórea dos indivíduos juvenis (n = 9) de *Salvator merianae*



4.5. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de adultos de *Salvator merianae*

Inicialmente o experimento contou com 11 indivíduos que ao longo do tempo foi reduzindo-se. Houve seis indivíduos que responderam prontamente a nova dieta, dois que levaram em média 60 dias para responder e três que não responderam a dieta, e em aproximadamente 105 dias já estavam mortos, restando apenas 8 indivíduos no final do experimento.

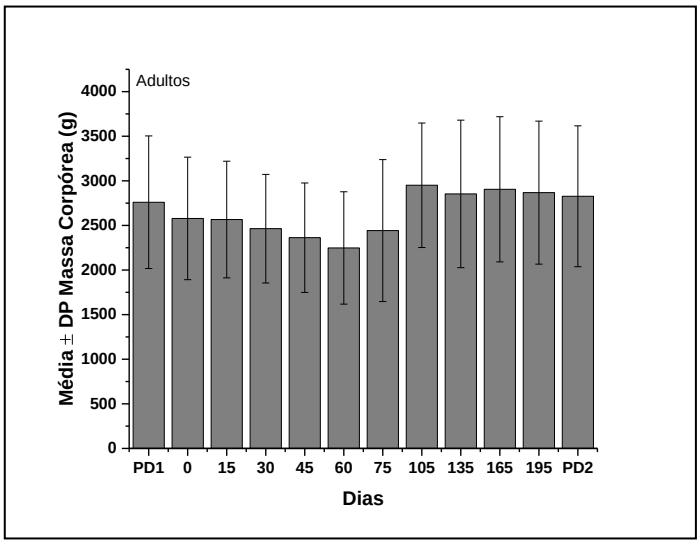
Não houve diferença significativa para a massa corpórea entre os períodos amostrados. No entanto, os indivíduos acordaram apresentando uma massa menor em relação ao PD1 conforme o esperado, pois eles utilizaram sua reserva para se manter durante o processo de dormência sazonal. Do período 0 quando despertaram até 65 dias perderam massa, conforme o esperado para o período reprodutivo. A partir desse período começaram a ganhar massa novamente que se manteve até o próximo período de pré dormência PD2 ($F = 1,01$; $df = 11$; $p = 0,439$) (Tabela 28, Figura 32).

Tabela 28 - Valores médios e desvio padrão da massa corpórea de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Massa corpórea (g)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	11	2760,18	743,29
0	11	2578,55	686,62
15	11	2566,09	653,30
30	11	2463,36	608,74
45	11	2362,64	613,30
60	10	2247,50	629,67
75	9	2442,00	795,69
105	8	2950,25	697,41
135	8	2853,63	827,05
165	8	2905,25	814,05
195	8	2867,88	801,44
PD2	8	2826,88	789,88

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).

Figura 32 - Média e desvio padrão da massa corpórea de indivíduos adultos de *Salvator merianae*



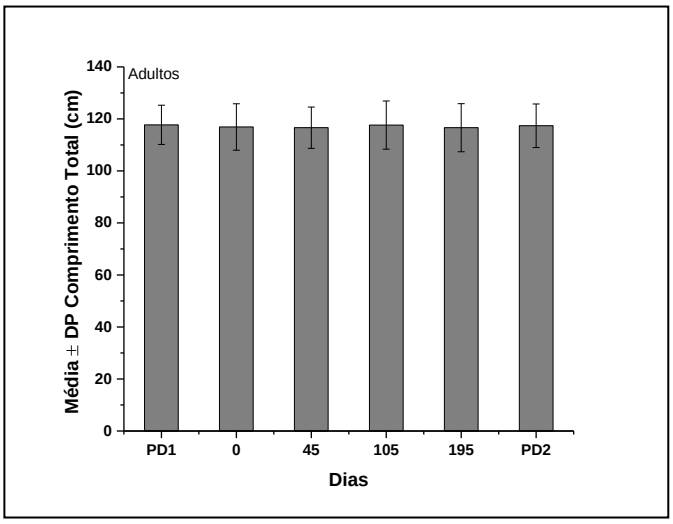
O comprimento total dos adultos não apresentou diferença estatística entre os períodos amostrados (F = 0,04; df = 5; p = 0,997) (Tabela 29, Figura 33).

Tabela 29 - Valores médios e desvio padrão do comprimento total de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Comprimento Total (cm)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	11	117,73	7,55
0	11	116,91	8,93
45	11	116,63	7,94
105	8	117,63	9,26
195	8	116,63	9,24
PD2	8	117,38	8,37

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).

Figura 33 - Média e desvio padrão do comprimento total de indivíduos adultos de *Salvator merianae*



Os adultos apresentaram variação entre os períodos amostrados nas composições isotópicas do carbono e nitrogênio para as células vermelhas. Essas mudanças nos valores eram esperadas para o experimento de taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico. A partir de 60 dias, houve diferença significativa nos valores ($\delta^{13}C$: F = 21,32; df = 10; p = 0,001) das células vermelhas em relação aos valores isotópicos iniciais (Tabela 30, Figura 34). A mudança significativa do nitrogênio começou aos 75 dias e se manteve similar até o final do período amostrado (Células vermelhas $\delta^{15}N$: F = 6,09; df = 10; p < 0,001) (Tabelas 31, Figura 35).

Tabela 30 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	11	-18,06[a]	0,53
15	11	-18,75[a]	0,87
30	11	-18,83[a]	0,78
45	11	-18,94[a]	0,65
60	10	-19,36[b]	0,68
75	9	-19,90[b]	1,02
105	8	-21,13[b]	0,86
135	8	-20,99[b]	1,11
165	8	-21,23[b]	0,92
195	8	-21,31[b]	0,78
PD2	8	-21,13[b]	0,77

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 34 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C das células vermelhas dos indivíduos adultos de *Salvator merianae*

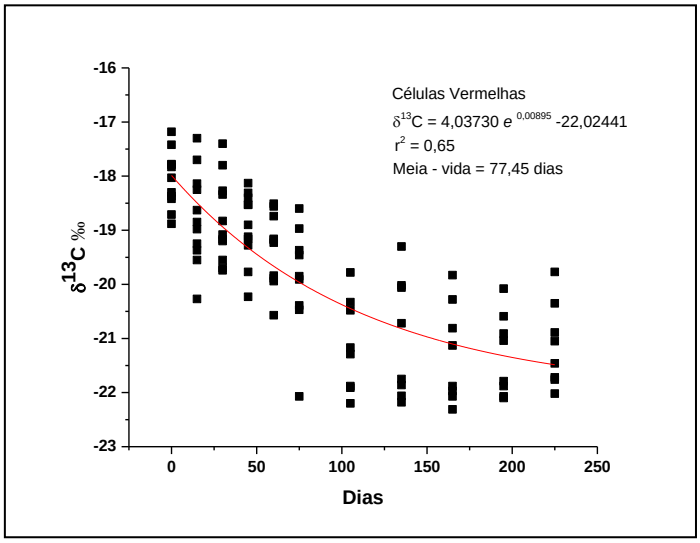
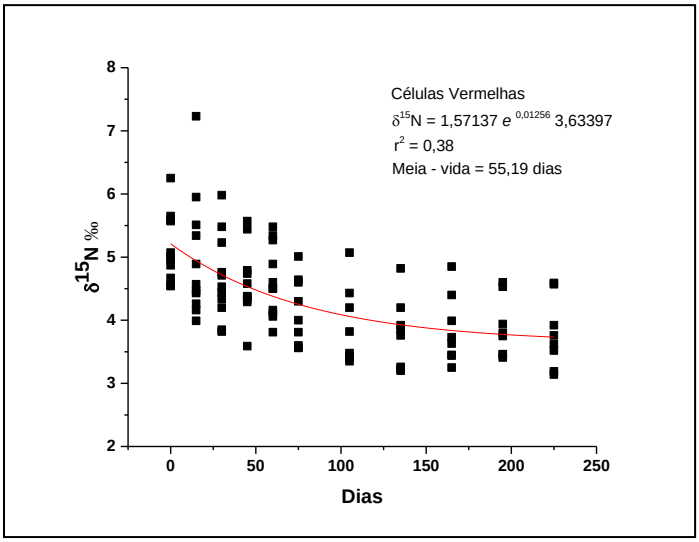


Tabela 31 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	11	5,16[a]	0,54
15	11	4,98[a]	0,97
30	11	4,67[a]	0,67
45	11	4,59[a]	0,55
60	11	4,65[a]	0,57
75	9	4,15[b]	0,57
105	8	4,00[b]	0,74
135	8	3,78[b]	0,56
165	8	3,82[b]	0,54
195	8	3,87[b]	0,47
PD2	8	3,79[b]	0,55

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 35 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N das células vermelhas dos indivíduos adultos de *Salvator merianae*



A mesma resposta ao experimento foi encontrada para o plasma, houve diferença a partir dos 30 dias, o carbono passou a ficar mais empobrecido nesse período se mantendo assim, até o final da amostragem (Plasma $\delta^{13}C$: F = 27,70; df = 10; p = 0,001) (Tabela 32, Figura 36). Após, 60 dias a composição isotópica do nitrogênio apresentou diferença, ficando mais leve em

relação ao valor isotópico inicial do experimento, mantendo-se similar até o final da amostragem, no período PD2 (225 dias) (Plasma $\delta^{15}N$: F = 7,47; df = 10; p < 0,001) (Tabela 33, Figura 37).

Tabela 32 - Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	11	-17,68[a]	0,42
15	11	-18,54[a]	1,16
30	11	-18,80[a]	0,95
45	11	-19,26[b]	0,58
60	10	-19,81[b]	0,97
75	9	-20,46[b]	0,70
105	8	-20,92[b]	0,76
135	8	-21,11[b]	0,31
165	8	-21,07[b]	0,35
195	8	-20,93[b]	0,28
PD2	8	-20,80[b]	0,24

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 36 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C o plasma dos indivíduos adultos de *Salvator merianae*

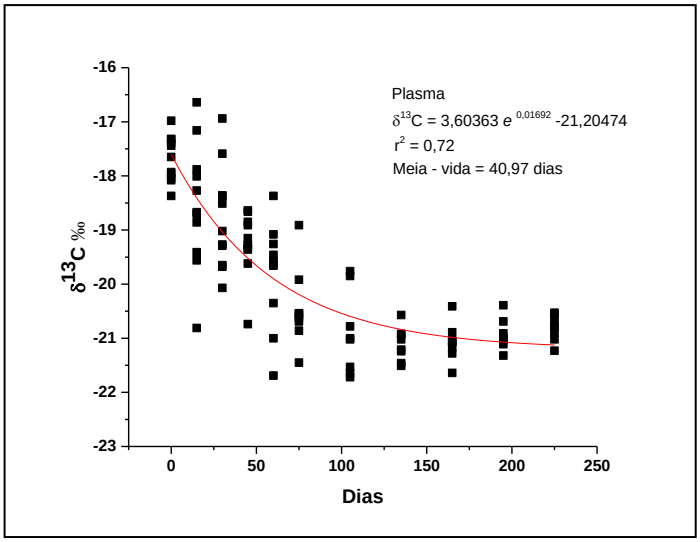
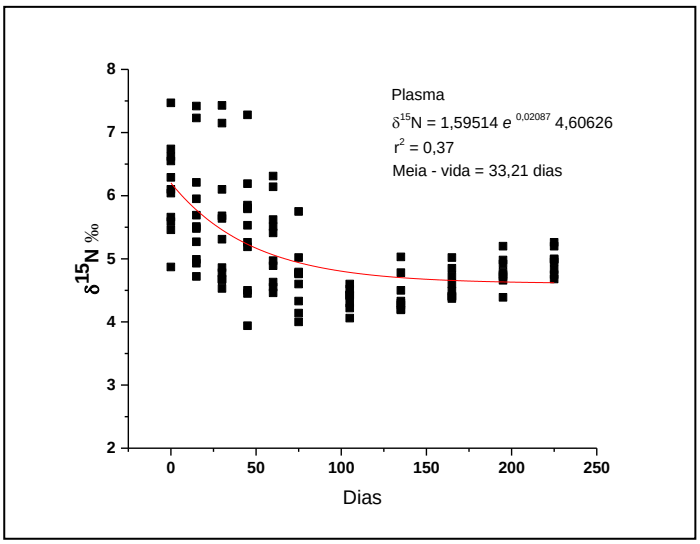


Tabela 33 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma de adultos de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	11	6,13[a]	0,72
15	11	5,76[a]	0,89
30	11	5,53[a]	1,01
45	11	5,47[a]	0,90
60	10	5,32[a]	0,61
75	9	4,70[b]	0,52
105	8	4,37[b]	0,17
135	8	4,48[b]	0,32
165	8	4,61[b]	0,24
195	8	4,80[b]	0,24
PD2	8	4,96[b]	0,20

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 37 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N o plasma dos indivíduos adultos de *Salvator merianae*



O ajuste de curva realizado nos valores isotópicos tanto para o carbono e nitrogênio das células vermelhas quanto para o plasma dos teiús adultos foi exponencial. A Tabela 34, apresenta as equações das taxas de *turnover*, valores calculados de meia-vidas (dias), 99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma.

Tabela 34 - Equações das taxas de *turnover*, valores calculados de meia-vidas (dias), 99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de adultos *Salvator merian*ae

Indivíduos	**Carbono**	**Nitrogênio**
Células Vermelhas	$\delta^{13}C(t) = -22{,}0244 + 4{,}0373e^{-0{,}0090t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}6397 + 1{,}5714e^{-0{,}0126t}$
Plasma	$\delta^{13}C(t) = -21{,}2047 + 3{,}6036e^{-0{,}0169t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}6063 + 1{,}5951e^{-0{,}0209t}$

Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
Meia-vida (dias)			
77,45	55,19	40,97	33,21
Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)			
542,15	386,33	286,79	232,47
Células vermelhas $\Delta^{13}C$	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
***Fator de discriminação isotópico (‰)**			
0,99	3,33	1,81	4,30

*** $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**

Três lagartos adultos não modificaram sua composição isotópica do $\delta^{13}C$ - $\delta^{15}N$ para células vermelhas e nem para o plasma entre os períodos amostrados. Mantiveram-com o patamar isotópico similar ao início do experimento, sendo que dois indivíduos apresentaram o nitrogênio do plasma mais elevado em relação ao período inicial. A fim de reduzir esse problema, foi retirado os três teiús. As Tabelas 35 – 38, apontam os valores médios e o tempo de sobrevivência desses animais durante o período amostrado.

Tabela 35 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas dos adultos de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Células vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
7-M	75	-18,33	0,29
8-M	45	-17,96	0,39
10-M	60	-17,83	0,65

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 36 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas dos adultos de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Células vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
7-M	75	4,65	0,21
8-M	45	5,84	0,78
10-M	60	5,80	0,38

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 37 - Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma dos adultos de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
7-M	75	-18,52	0,74
8-M	45	-17,56	1,19
10-M	60	-18,68	1,95

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

Tabela 38 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma dos adultos de *S. merianae* que não apresentaram mudança nas composições isotópicas entre os períodos

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Indivíduos	**Dias**	**Média**	**Desvio Padrão**
T7	75	5,89	0,35
T8	45	7,10	0,25
T10	60	6,80	0,90

[1]Dias – representa o tempo de sobrevivência dos indivíduos juvenis de *Salvator merianae* durante o experimento.

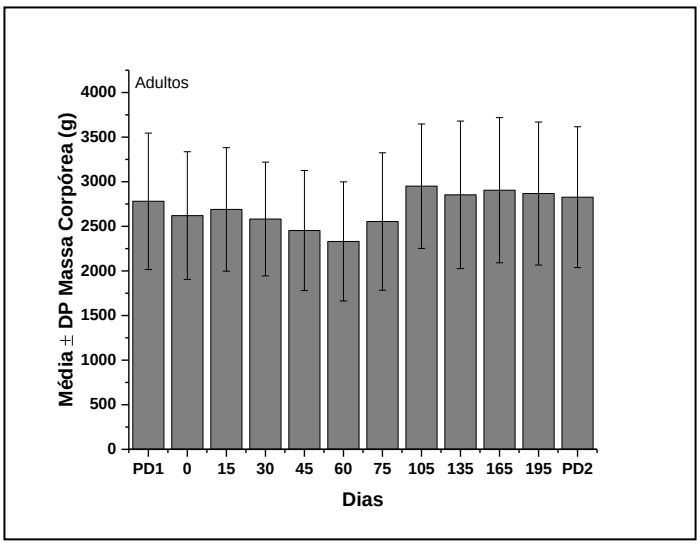
Como feito anteriormente com os indivíduos juvenis, após a retirada dos indivíduos adultos que não responderam o experimento foi realizado uma análise completa. Essa análise levou em consideração a massa corpórea, análises isotópicas e ajustes de curvas somente com os oito teiús que responderam o experimento. As massas corpóreas dos indivíduos adultos variaram não significativamente ao longo do período da amostragem (F = 0,55; df = 11; p = 0,860) (Tabela 39, Figura 38).

Tabela 39 - Valores médios e desvio padrão da massa corpórea de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Massa corpórea (g)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	8	2781,00	764,97
0	8	2620,63	715,86
15	8	2689,63	692,37
30	8	2582,13	637,49
45	8	2453,63	672,99
60	8	2331,00	667,94
75	8	2554,50	770,32
105	8	2950,25	697,41
135	8	2853,63	827,05
165	8	2905,25	814,05
195	8	2867,88	801,44
PD2	8	2826,88	789,88

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).

Figura 38 - Média e desvio padrão da massa corpórea de indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*



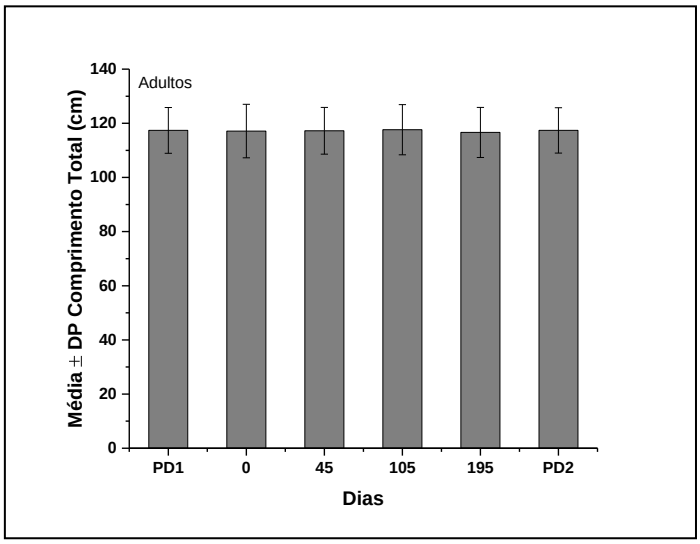
O comprimento total dos adultos não apresentou diferença estatística entre os períodos amostrados (F = 0,01; df = 5; p = 0,999) (Tabela 40, Figura 39).

Tabela 40 - Valores médios e desvio padrão do comprimento total de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Comprimento Total (cm)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
PD1	8	117,38	8,47
0	8	117,13	9,88
45	8	117,25	8,63
105	8	117,63	9,26
195	8	116,63	9,24
PD2	8	117,38	8,37

[1]PD1 – Pré dormência (abril de 2016) e PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).

Figura 39 - Média e desvio padrão do comprimento total de indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*



Os 8 adultos apresentaram variação entre os períodos amostrados nas composições isotópicas do carbono e nitrogênio para as células vermelhas. Essas mudanças nos valores estão de acordo com experimento de taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico.

A partir de 60 dias, houve diferença significativa nos valores ($\delta^{13}C$: F = 16,29; df = 10; p < 0,001) das células vermelhas em relação aos valores isotópicos iniciais ficando similares até o último período da amostragem (Tabela 41, Figura 40). A mudança significativa do nitrogênio começou depois dos 75 dias e se manteve semelhante até o final do período amostrado (Células vermelhas $\delta^{15}N$: F = 4,43; df = 10; p < 0,001) (Tabela 42, Figura 41).

Tabela 41 - Valores médios e desvio padrão do carbono das células vermelhas de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	8	-18,20[a]	0,54
15	8	-19,14[a]	0,62
30	8	-19,19[a]	0,49
45	8	-19,12[a]	0,68
60	8	-19,55[b]	0,63
75	8	-20,06[b]	0,96
105	8	-21,13[b]	0,86
135	8	-20,99[b]	1,11
165	8	-21,23[b]	0,92
195	8	-21,31[b]	0,78
PD2	8	-21,13[b]	0,77

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 40 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C das células vermelhas dos indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*

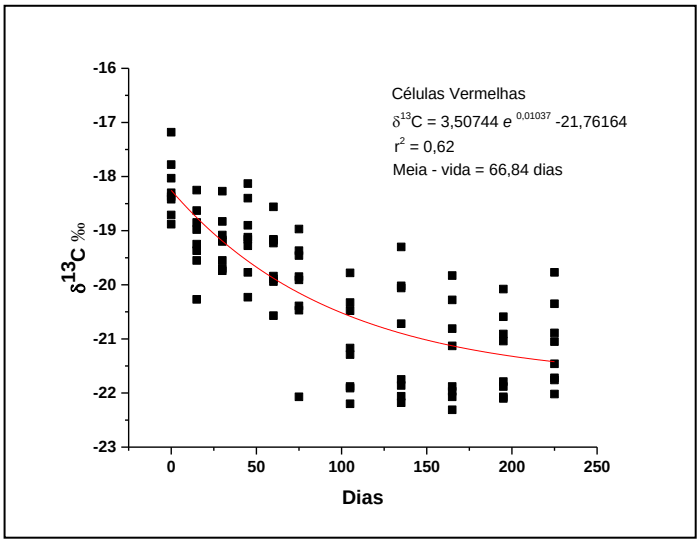
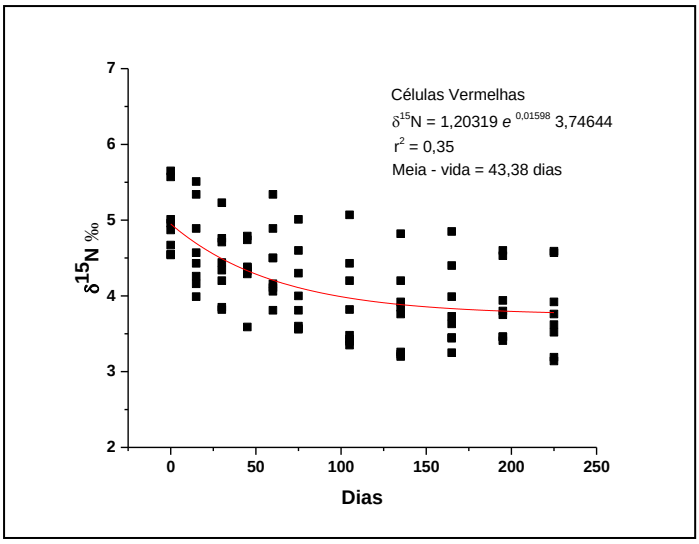


Tabela 42 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio das células vermelhas de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Células Vermelhas ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	8	4,98[a]	0,43
15	8	4,64[a]	0,55
30	8	4,42[a]	0,48
45	8	4,36[a]	0,36
60	8	4,48[a]	0,53
75	8	4,09[b]	0,58
105	8	4,00[b]	0,74
135	8	3,78[b]	0,56
165	8	3,82[b]	0,54
195	8	3,87[b]	0,47
PD2	8	3,79[b]	0,55

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 41 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N das células vermelhas dos indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*



A resposta ao experimento encontrada para o plasma foi diferente a anterior com todos os indivíduos, a diferença ocorreu no período anterior, a partir dos 15 dias, se mantendo similar, até o final da amostragem (Plasma $\delta^{13}C$: F = 30,37; df = 10; p = 0,001) (Tabela 43, Figura 42). Após, 15 dias a composição isotópica do nitrogênio apresentou diferença,

ficando empobrecido em relação ao valor isotópico inicial do experimento, no entanto, tornou-se enriquecido novamente dos 45 – 60 dias, ficando mais leve a partir dos 75 dias, mantendo-se similar até o final da amostragem, no período PD2 (225 dias) (Plasma $\delta^{15}N$: F = 7,77; df = 10; p < 0,001) (Tabela 44, Figura 43).

Tabela 43 - Valores médios e desvio padrão do carbono do plasma de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{13}C$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	8	-17,81[a]	0,44
15	8	-19,02[b]	0,91
30	8	-19,21[b]	0,61
45	8	-19,21[b]	0,68
60	8	-19,66[b]	0,77
75	8	-20,65[b]	0,42
105	8	-20,91[b]	0,76
135	8	-21,10[b]	0,31
165	8	-21,07[b]	0,35
195	8	-20,93[b]	0,28
PD2	8	-20,85[b]	0,24

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Figura 42 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C do plasma dos indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*

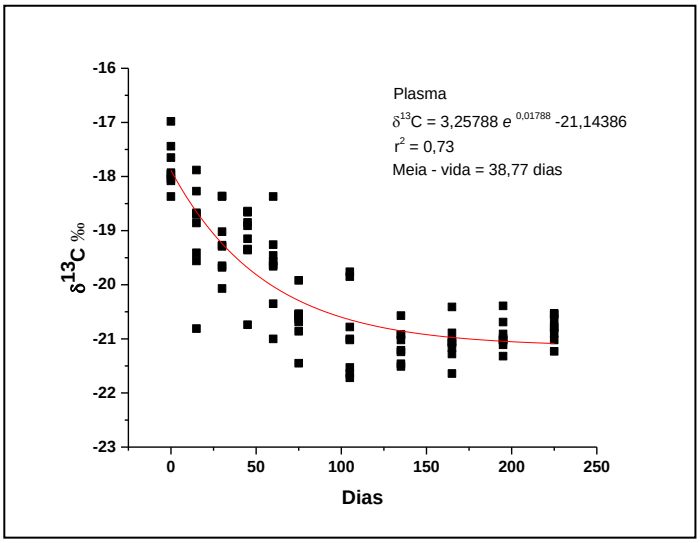
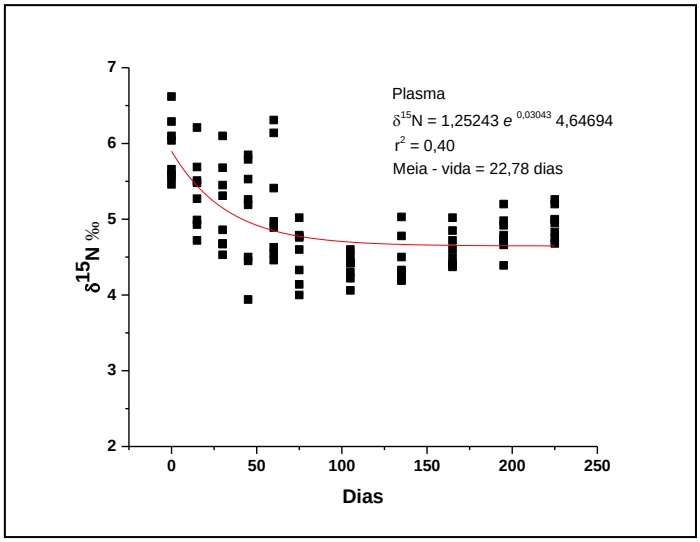


Tabela 44 - Valores médios e desvio padrão do nitrogênio do plasma de adultos (n=8) de *S. merianae* durante o ciclo sazonal anual

Plasma ($\delta^{15}N$ ‰)			
Dias	**N**	**Média**	**Desvio Padrão**
0	8	5,83[a]	0,55
15	8	5,35[a]	0,48
30	8	5,08[b]	0,56
45	8	5,11[a]	0,66
60	8	5,25[a]	0,67
75	8	4,57[b]	0,36
105	8	4,37[b]	0,17
135	8	4,48[b]	0,32
165	8	4,61[b]	0,24
195	8	4,80[b]	0,24
PD2	8	4,95[b]	0,20

[1]PD2 = 225 dias – Pré dormência (abril de 2017).
[2]Valores na linha acompanhadas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 43 - Curva da taxa de *turnover* do ^{15}N do plasma dos indivíduos adultos (n=8) de *S. merianae*



O ajuste de curva realizado nos valores isotópicos tanto para o carbono e nitrogênio das células vermelhas quanto para o plasma dos oito teiús adultos foi exponencial como anteriormente, com todos indivíduos presentes (Tabela 45).

Tabela 45 - Equações das taxas de *turnover*, valores calculados de meia-vidas (dias), 99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *S. merian*ae adultos (n=8)

Indivíduos	**Carbono**	**Nitrogênio**
Células Vermelhas	$\delta^{13}C(t) = -21{,}7616 + 3{,}5074e^{-0{,}0104t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}7464 + 1{,}2032e^{-0{,}0160t}$
Plasma	$\delta^{13}C(t) = -21{,}1439 + 3{,}2579e^{-0{,}0179t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}6470 + 1{,}2524e^{-0{,}0304t}$

Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
Meia-vida (dias)			
66,84	43,38	38,77	22,78
Células vermelhas $\delta^{13}C$	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)			
467,88	303,66	271,39	159,46
Células vermelhas $\Delta^{13}C$	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
***Fator de discriminação isotópico (‰)**			
1,25	3,44	1,87	4,34

*** $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**

4.6. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de adultos de *Salvator merianae*

Devido a variação individual na resposta à nova dieta do experimento que os indivíduos adultos apresentaram, foi realizado a análise de ajuste de curva da taxa de *turnover* individualmente. A Tabela 46, explicita os respectivos modelos matemáticos que foram utlizados para ajustar as curvas que cada indíviduo apresentou para ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas.

Tabela 46 - Equações das taxas de *turnover* do carbono e nitrogênio das células vermelhas de *Salvator merianae* adultos (n=8)

Indivíduos	Carbono	Nitrogênio
1-M**	$\delta^{13}C(t) = -22{,}4466 + 4{,}3603e^{-0{,}0121t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}0045 + 1{,}4026e^{-0{,}0084t}$
2-F*	$\delta^{13}C(t) = -22{,}1026 + 4{,}4087e^{-0{,}0176t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}5864 + 2{,}1816e^{-0{,}0179t}$
3-F	$\delta^{13}C(t) = -22{,}6807 + 3{,}9671e^{-0{,}0081t}$	$\delta^{15}N(t) = 2{,}9558 + 1{,}6341e^{-0{,}0092t}$
4-F	$\delta^{13}C = -20{,}4833 + \frac{18{,}9756}{1 + e^{\frac{t-104{,}4502}{29{,}2628}}}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}7605 + 0{,}8380e^{-0{,}0249t}$
5-F	$\delta^{13}C(t) = -21{,}6054 + 3{,}4178e^{-0{,}0097t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}5842 + 1{,}2270e^{-0{,}0135t}$
6-M	$\delta^{13}C(t) = -22{,}5791 + 4{,}3026e^{-0{,}0129t}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}4161 + 1{,}2413e^{-0{,}0337t}$
9-M	$\delta^{13}C(t) = -20{,}1214 + 1{,}7891e^{-0{,}0108t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}3754 + 0{,}5896e^{-0{,}0889t}$
11-M	$\delta^{13}C = -20{,}7692 + \frac{18{,}2878}{1 + e^{\frac{t-79{,}4208}{4{,}8639}}}$	$\delta^{15}N(t) = 3{,}3383 + 1{,}6974e^{-0{,}0054t}$

*F – fêmea; ** Macho

Semelhante, as células vermelhas, os adultos apontaram dois tipos de modelos matemáticos (sigmoidal - *Boltzmann* e exponencial) para o ajuste de curva da taxa de *turnover* para o ^{13}C e ^{15}N do plasma (Tabela 47).

Tabela 47 - Equações das taxas de *turnover* do carbono e nitrogênio do plasma de *Salvator merianae* adultos (n=8)

Indivíduos	Carbono	Nitrogênio
1-M**	$\delta^{13}C(t) = -21{,}1416 + 3{,}4726e^{-0{,}0268t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}5567 + 0{,}9055e^{-0{,}1193t}$
2-F*	$\delta^{13}C(t) = -20{,}9479 + 3{,}0976e^{-0{,}0262t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}9551 + 1{,}4049e^{-0{,}0219t}$
3-F	$\delta^{13}C(t) = -21{,}3363 + 3{,}1097e^{-0{,}0138t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}4069 + 1{,}1629e^{-0{,}0344t}$
4-F	$\delta^{13}C = -21{,}0138 + \frac{18{,}4593}{1 + e^{\frac{t-74{,}5246}{1{,}6605}}}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}3067 + 2{,}2759e^{-0{,}0122t}$
5-F	$\delta^{13}C(t) = -20{,}9902 + 2{,}9023e^{-0{,}0166t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}6975 + 1{,}0242e^{-0{,}0213t}$
6-M	$\delta^{13}C(t) = -21{,}5883 + 3{,}7801e^{-0{,}0322t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}4788 + 1{,}6551e^{-0{,}0618t}$
9-M	$\delta^{13}C(t) = -20{,}5950 + 2{,}6041e^{-0{,}0197t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}7379 + 0{,}9310e^{-0{,}1206t}$
11-M	$\delta^{13}C(t) = -21{,}4740 + 4{,}1130e^{-0{,}0121t}$	$\delta^{15}N(t) = 4{,}4014 + 1{,}7543e^{-0{,}0175t}$

*F – fêmea; ** Macho

Após realizar todos os ajustes individualmente para os adultos, foi calculado para as células vermelhas e o plasma as meia-vidas, 99% de carbono e nitrogênio substituído e o fator de discriminação isotópico para cada indivíduo (Tabela 48).

Tabela 48 - Valores calculados de meia-vidas (dias) e fator de discriminação isotópico (‰) entre o tecido e dieta de *Salvator merian*ae adultos (n=8)

Indivíduos	**Células vermelhas $\delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
		Meia-vida (dias)		
1-M	57,28	82,52	25,89	5,81
2-F	39,29	38,64	26,42	31,69
3-F	85,47	75,59	50,34	20,17
4-F	104,45	27,80	74,50	56,96
5-F	71,38	51,20	41,66	32,58
6-M	53,65	20,56	21,53	11,23
9-M	64,30	7,80	35,27	5,75
11-M	79,42	128,60	57,52	39,56
Indivíduos	**Células vermelhas $\delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$**	**Plasma $\delta^{13}C$**	**Plasma $\delta^{15}N$**
		99 % de carbono e nitrogênio substituído (dias)		
1-M	400,96	577,64	181,23	40,67
2-F	275,03	270,48	184,94	221,83
3-F	598,29	529,13	352,38	141,19
4-F	731,15	194,60	521,64	398,72
5-F	499,66	358,40	291,60	228,06
6-M	375,55	143,92	150,71	78,61
9-M	450,10	54,60	246,89	40,25
11-M	555,94	900,20	402,64	276,92
Indivíduos	**Células vermelhas $\Delta^{13}C$**	**Células vermelhas $\Delta^{15}N$**	**Plasma $\Delta^{13}C$**	**Plasma $\Delta^{15}N$**
		Fator de discriminação (‰) - $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$		
1-M	0,56	2,69	1,87	4,25
2-F	0,91	3,26	2,06	4,65
3-F	0,33	2,65	1,70	4,10
4-F	2,53	4,45	2,00	4,00
5-F	1,40	3,27	2,01	4,39
6-M	0,43	3,11	1,47	4,17
9-M	2,89	4,07	2,41	4,43
11-M	2,24	3,03	1,54	4,09

*** $\Delta = \delta_{tecido} - \delta_{dieta}$**

Com intuito, de uma melhor explanação foi realizado um conjunto de figuras que expressa a taxa de *turnover* para ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma para cada indivíduo adulto. Nessas figuras contém o valor de r^2 para cada curva ajustada e seu respectivo modelo matemático (Figuras 44 -51).

Figura 44 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 1-M de *Salvator merianae* adulto

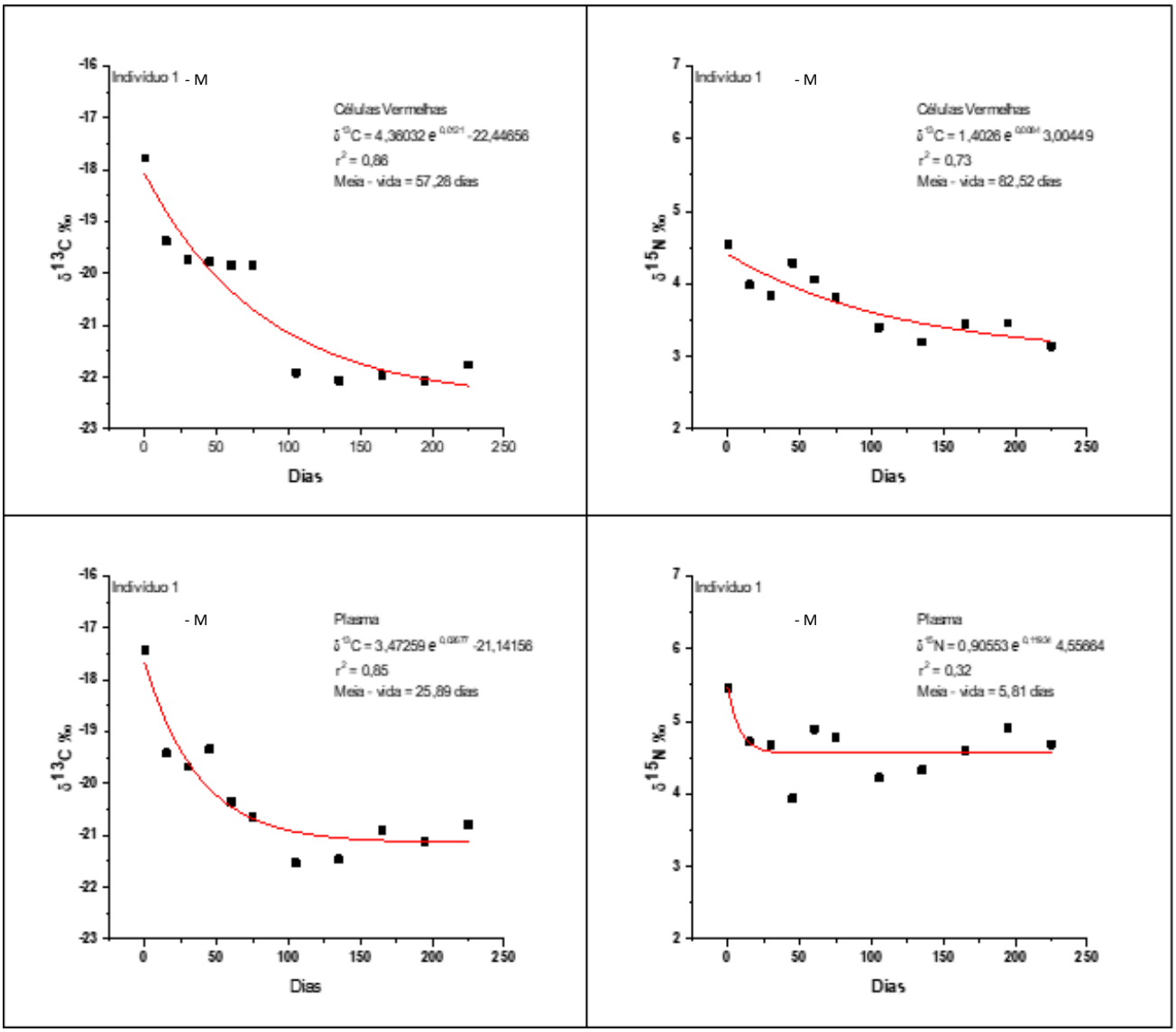


Figura 45 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 2-F de *Salvator merianae* adulto

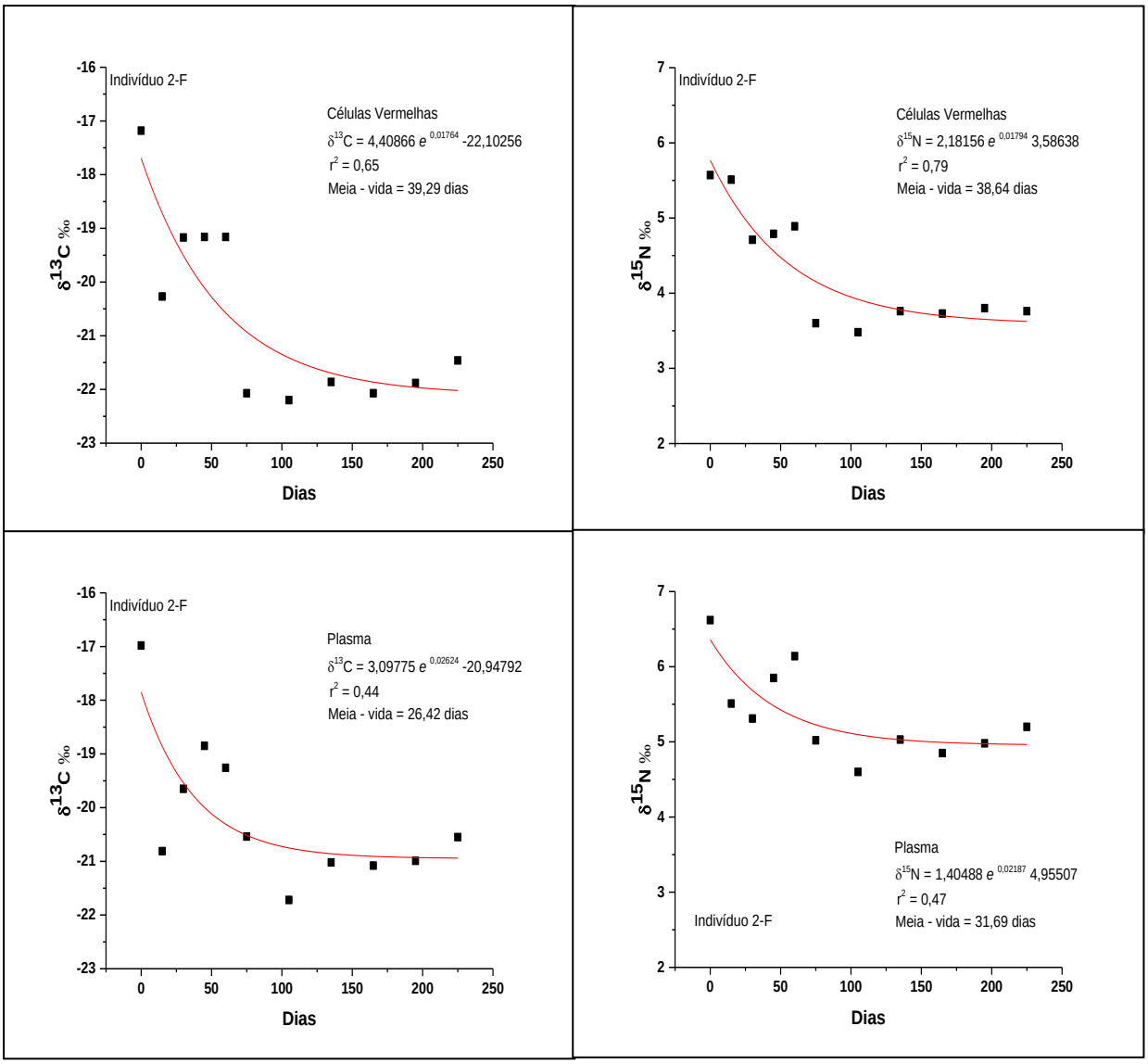


Figura 46 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 3-F de *Salvator merianae* adulto

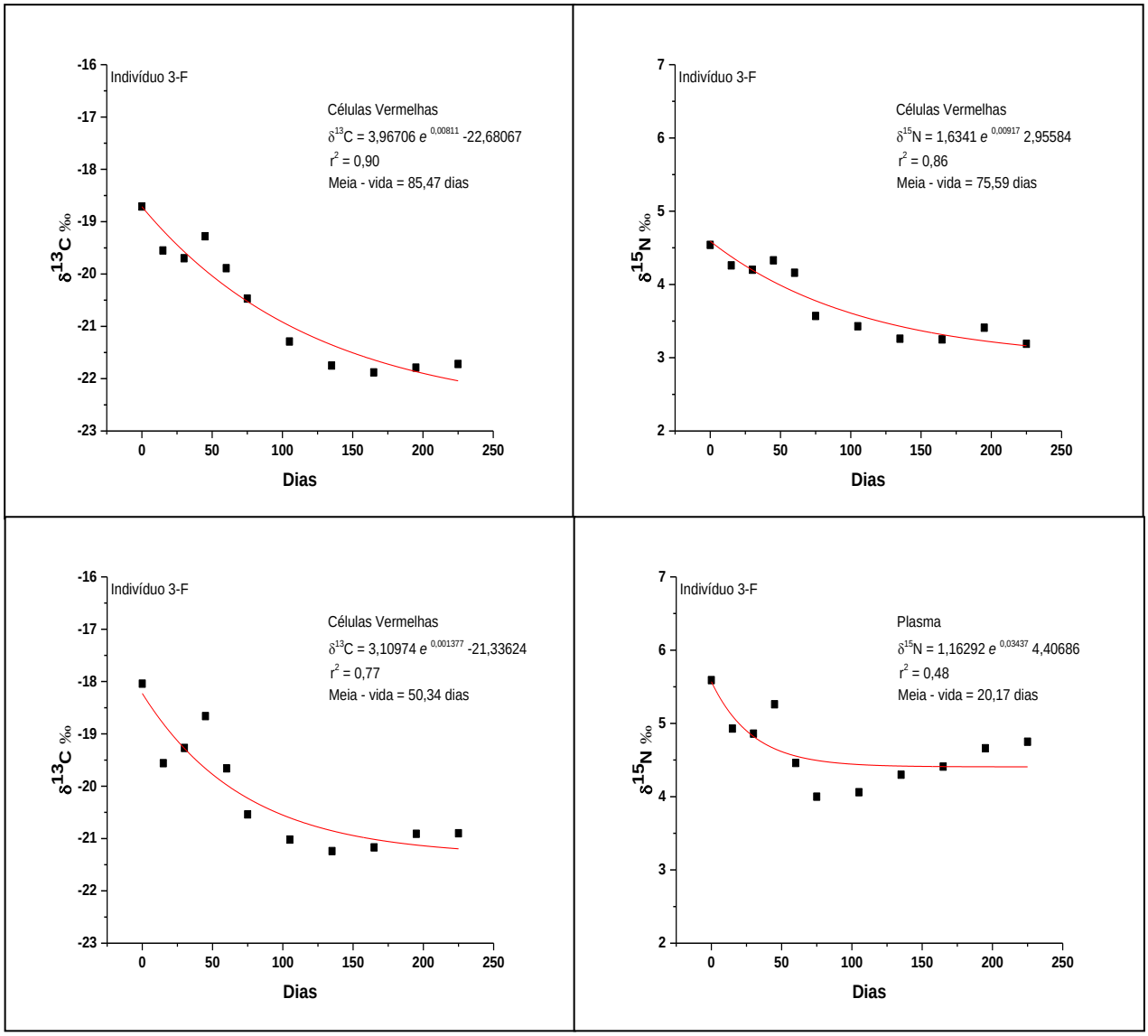


Figura 47 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 4-F de *Salvator merianae* adulto

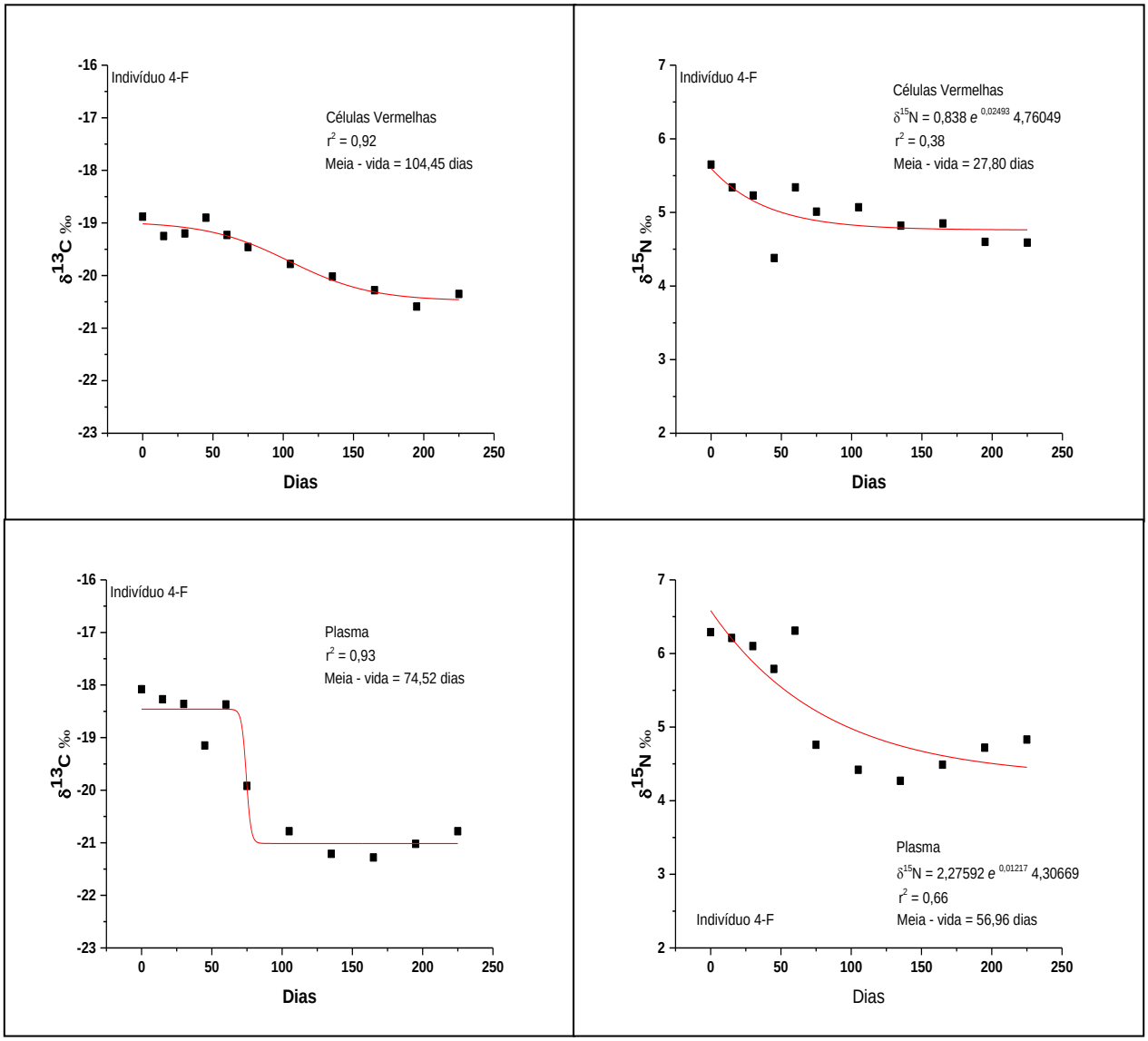


Figura 48 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 5-F de *Salvator merianae* adulto

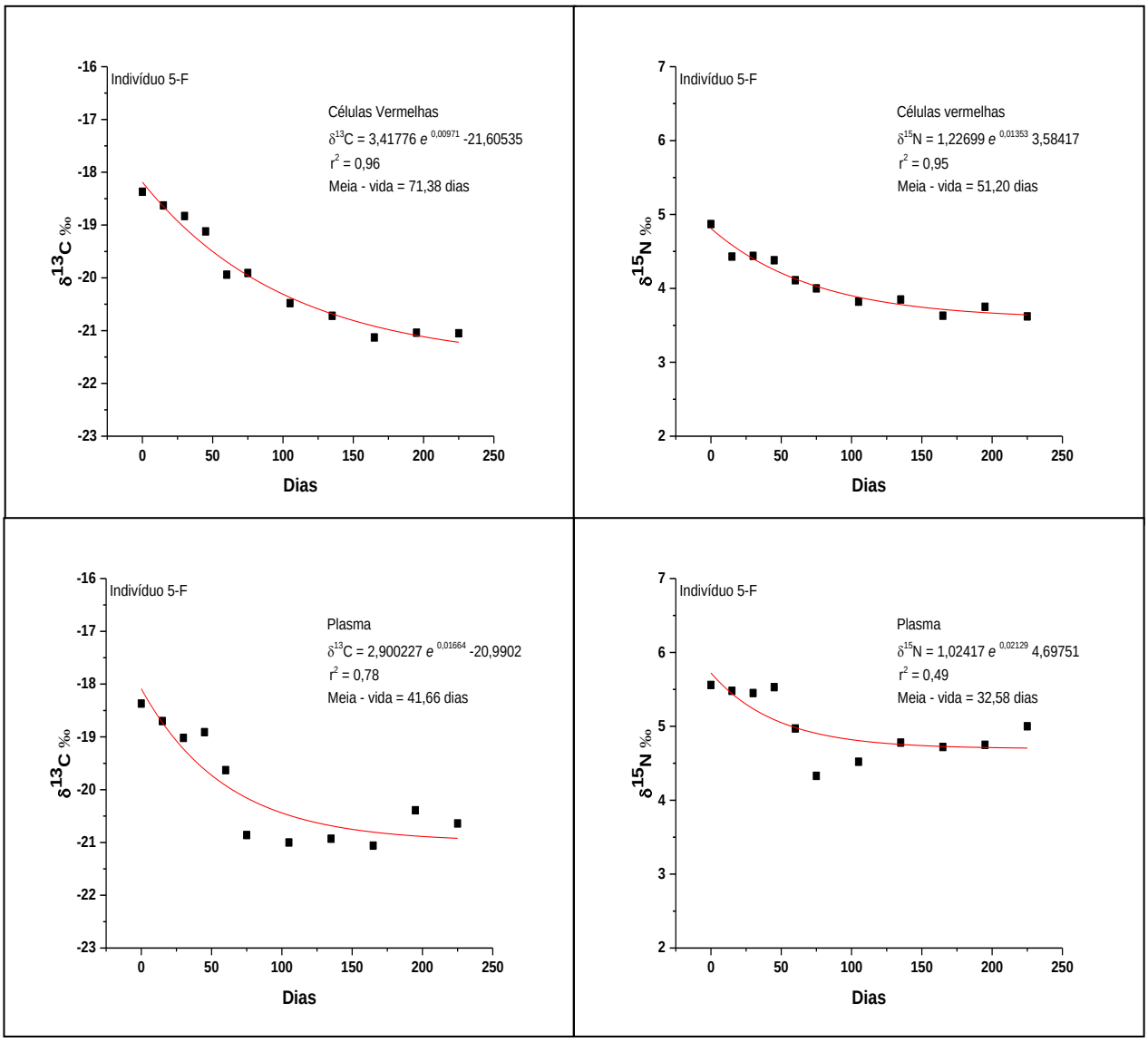


Figura 49 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 6-M de *Salvator merianae* adulto

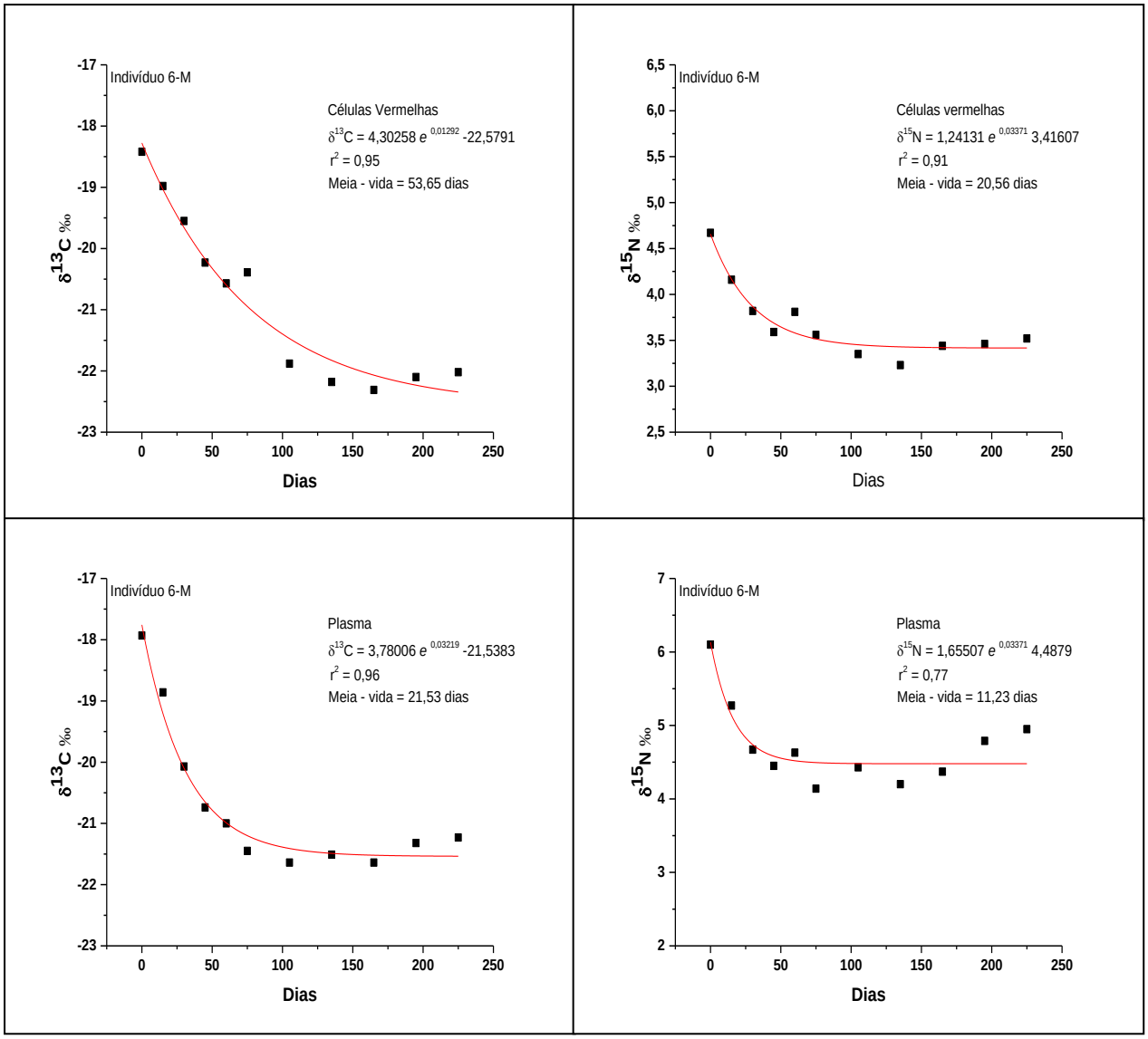


Figura 50 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 9-M de *Salvator merianae* adulto

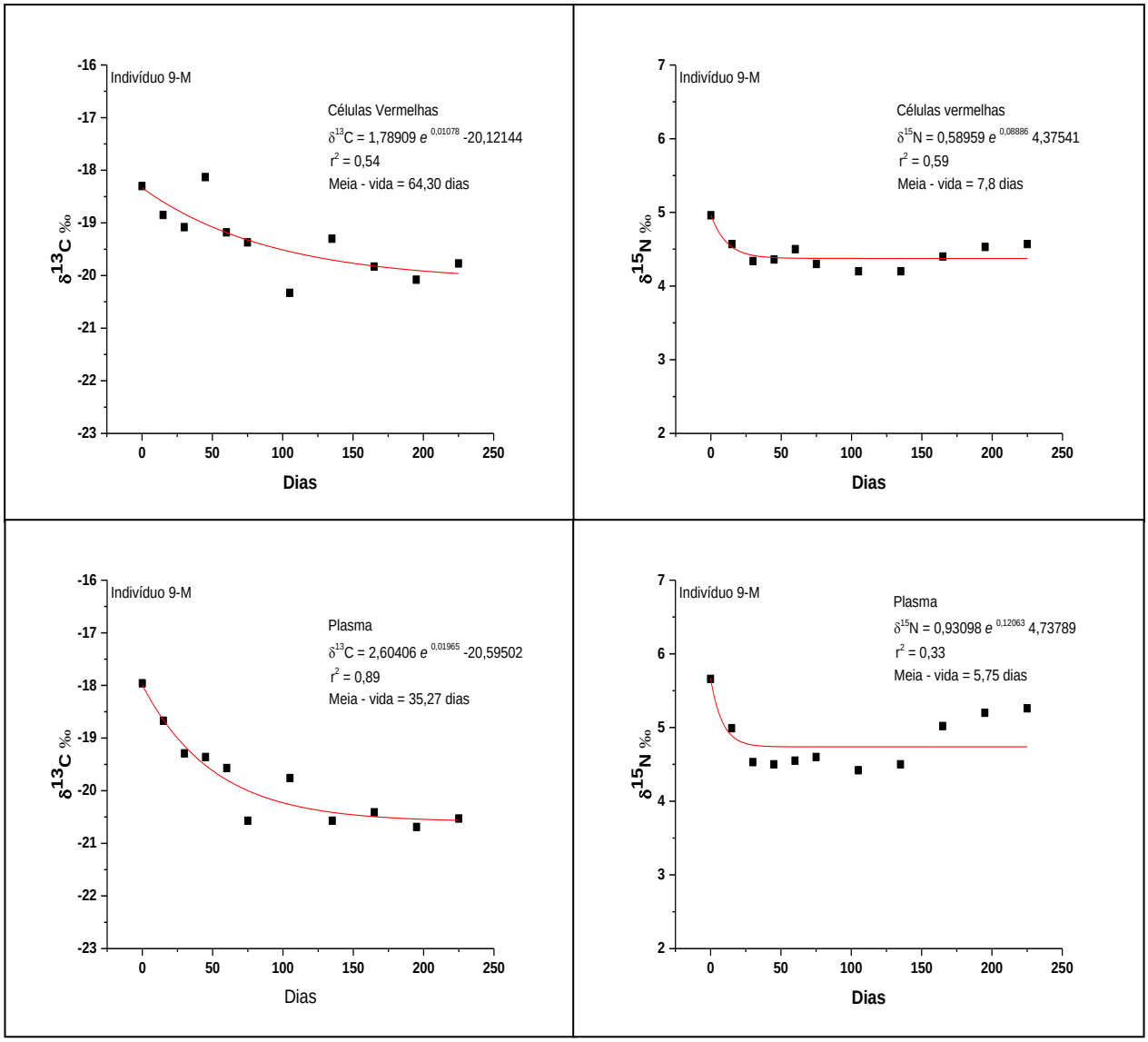
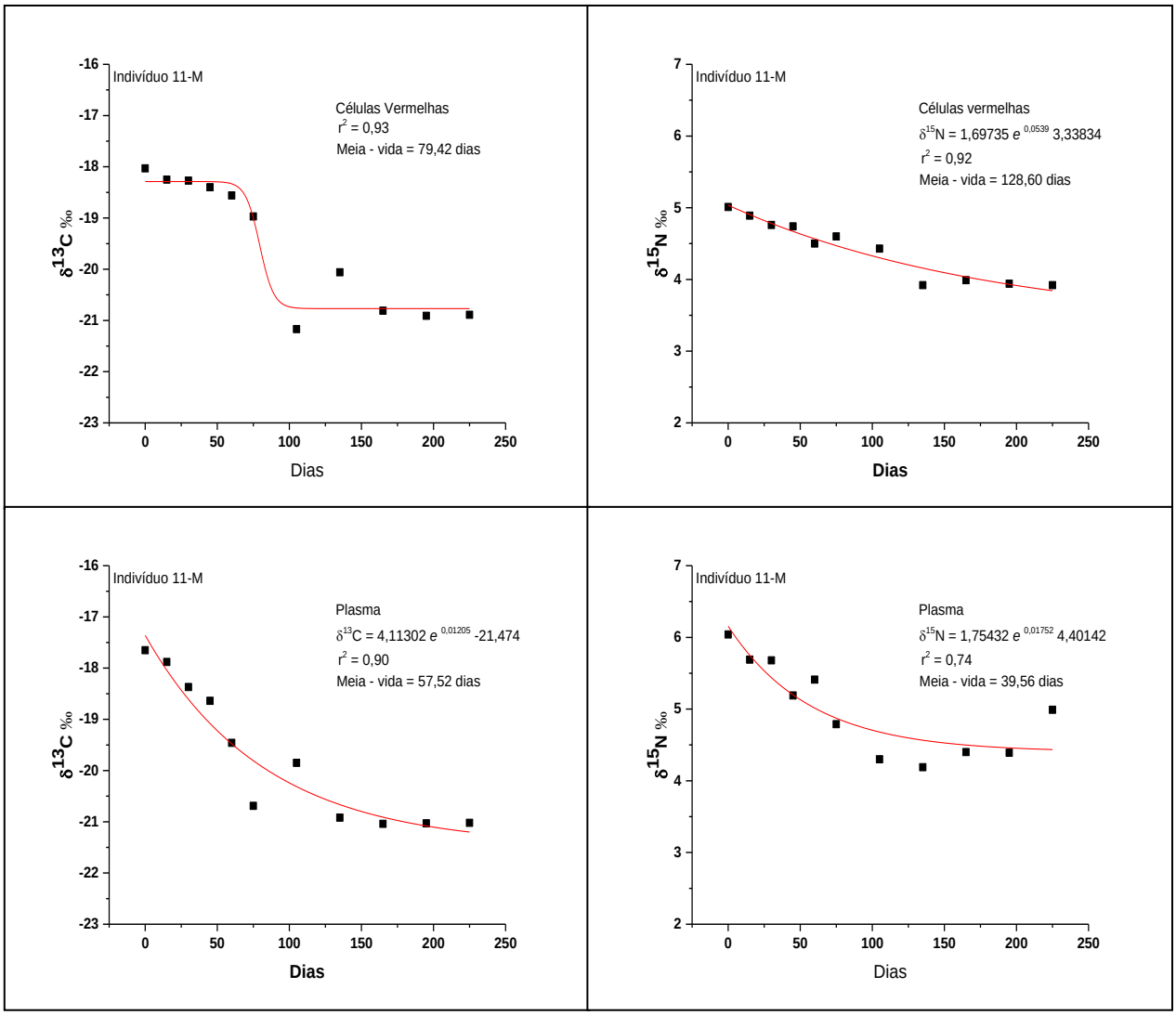


Figura 51 - Curva da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma do indivíduo 11-M de *Salvator merianae* adulto

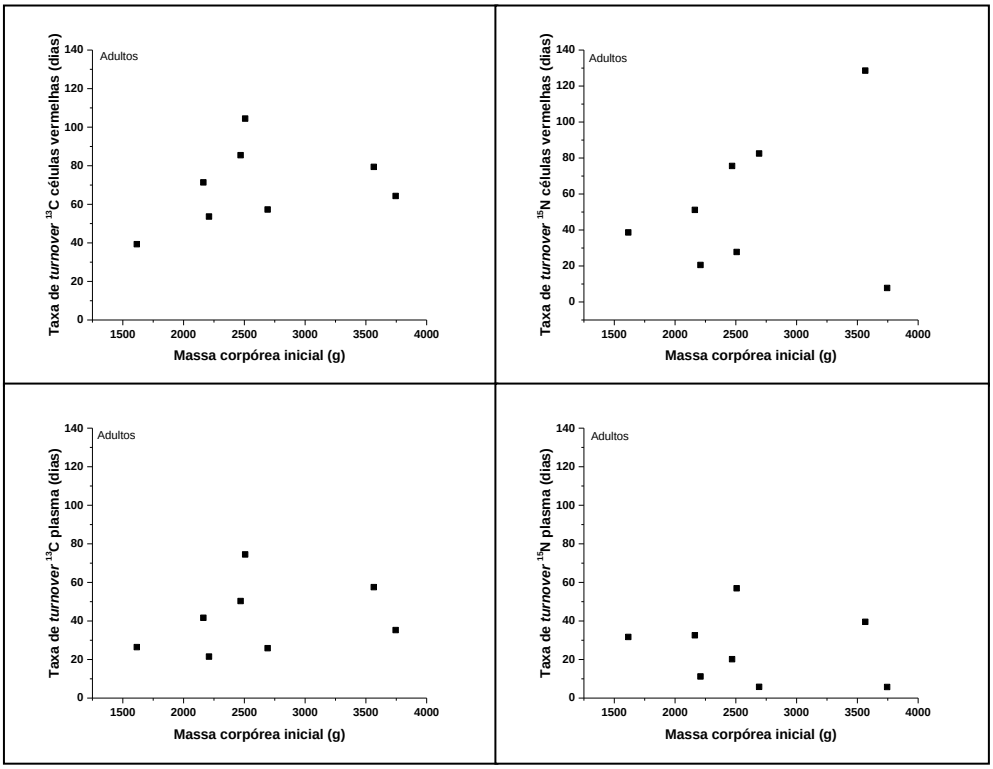


Uma possível influência da massa corpórea inicial na taxa de *turnover* e do fator de discriminação do carbono e nitrogênio dos adultos foi testado com a regressão linear. A Tabela 49 apresenta os valores da massa corpórea inicial e a taxa de *turnover* de cada indivíduo e os valores médio respectivos. Não houve relação significativa tanto para a taxa de *turnover* do ^{13}C quanto para ^{15}N das células vermelhas com a massa corpórea inicial (F = 0,66; p = 0,446; r^2 = -0,05) e (F = 0,42; p = 0,542; r^2 = -0,09). O mesmo ocorreu com a taxa de *turnover* do ^{13}C e da ^{15}N do plasma em relação à massa corpórea (F = 0,12; p = 0,740; r^2 = -0,08); (F = 0,21; p = 0,662; r^2 = -0,13) (Figura 52).

Tabela 49 - Massa corpórea inicial e taxa de turnover (dias) do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* adultos

Indivíduos	Massa Corpórea inicial (g)	Células vermelhas $\delta^{13}C$ T_{50} dias	Células vermelhas $\delta^{15}N$ T_{50} dias	Plasma $\delta^{13}C$ T_{50} dias	Plasma $\delta^{15}N$ T_{50} dias
1-M	2692	57,28	82,52	25,89	5,81
2-F	1615	39,29	38,64	26,42	31,69
3-F	2469	85,47	75,59	50,34	20,17
4-F	2507	104,45	27,80	74,50	56,96
5-F	2163	71,38	51,20	41,66	32,58
6-M	2209	53,65	20,56	21,53	11,23
9-M	3745	64,30	7,80	35,27	5,75
11-M	3565	79,42	128,60	57,52	39,56
Média ± DP	**2620,63 ± 715,86**	**69,41 ± 19,10**	**54,09 ± 37,13**	**41,64 ± 17,07**	**25,47 ± 15,94**

Figura 52 - Regressão linear da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma e massa corpórea inicial dos indivíduos adultos (n = 8) de *Salvator merianae*



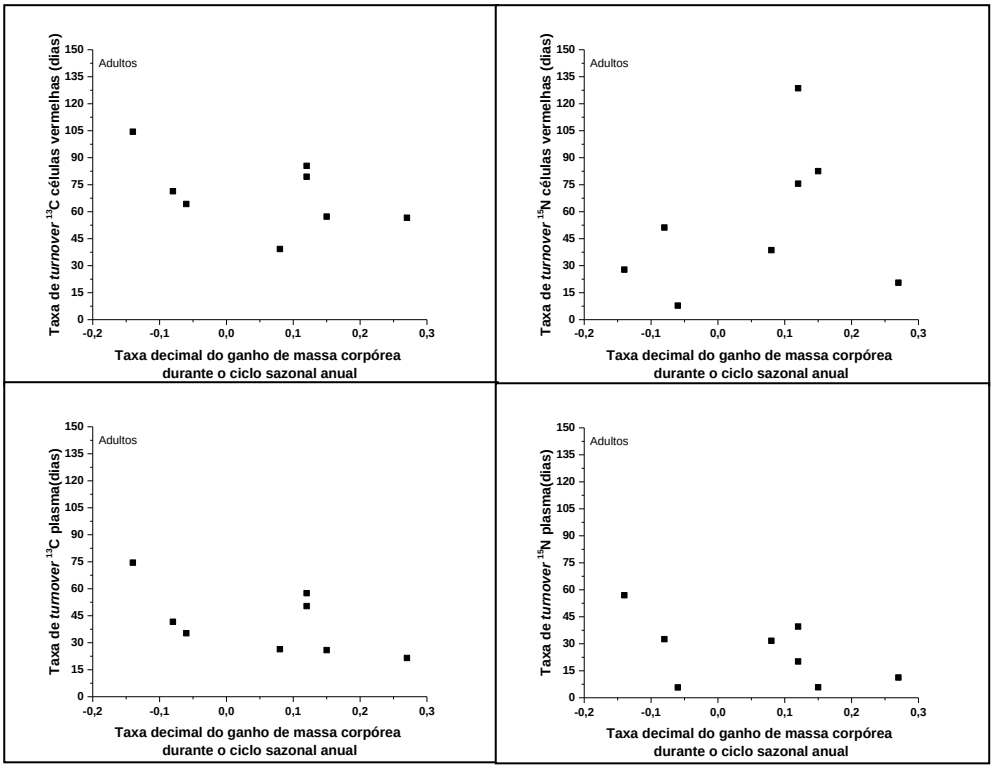
Do mesmo modo como foi feito com os juvenis, a fim, de verificar se houve relação entre o índice corporal com a taxa de *turnover* foi realizado a regressão linear. A Tabela 50 apresenta os valores do índice biométrico e a taxa de *turnover* de cada indivíduo e os valores médio respectivos. Não houve relação significativa tanto para a taxa de *turnover* do ^{13}C quanto para ^{15}N das células vermelhas com a taxa de ganho de massa corpórea dos adultos (F = 1,86; p = 0,221; r^2 = 0,11) e (F = 0,67; p = 0,444; r^2 = - 0,05). O mesmo aconteceu com a

taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N do plasma em relação com a taxa de ganho de massa corpórea (F = 3,08; p = 0,130; r^2 = 0,23) e (F = 2,19; p = 0,190; r^2 = 0,15) (Figura 53).

Tabela 50 - Taxa de ganho decimal de massa corpórea e taxa de turnover (dias) do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* adultos

Indivíduos	**ΔM_c**	**Células vermelhas $\delta^{13}C$ T_{50} dias**	**Células vermelhas $\delta^{15}N$ T_{50} dias**	**Plasma $\delta^{13}C$ T_{50} dias**	**Plasma $\delta^{15}N$ T_{50} dias**
1-M	0,15	57,28	82,52	25,89	5,81
2-F	0,08	39,29	38,64	26,42	31,69
3-F	0,12	85,47	75,59	50,34	20,17
4-F	-0,14	104,45	27,80	74,50	56,96
5-F	-0,08	71,38	51,20	41,66	32,58
6-M	0,27	53,65	20,56	21,53	11,23
9-M	-0,06	64,30	7,80	35,27	5,75
11-M	0,12	79,42	128,60	57,52	39,56
Média ± DP	**0,06 ± 0,13**	**69,41 ± 19,10**	**54,09 ± 37,13**	**41,64 ± 17,07**	**25,47 ± 15,94**

Figura 53 - Regressão linear da taxa de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma e da taxa decimal de ganho de massa corpórea dos indivíduos adultos (n = 8) de *Salvator merianae*

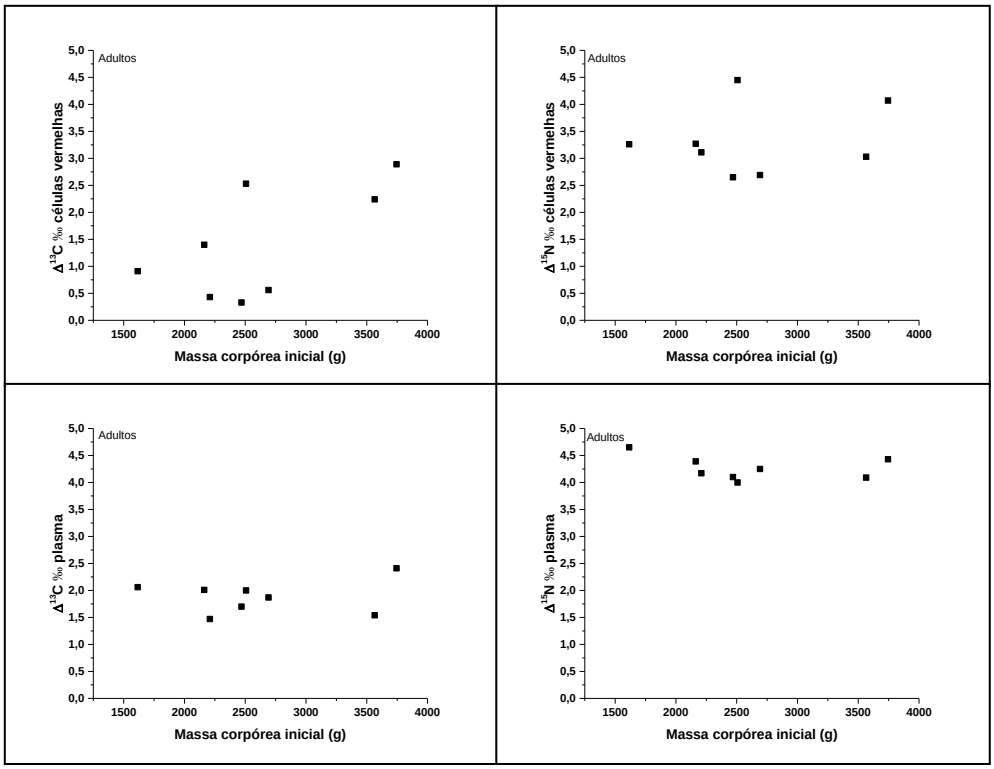


O mesmo padrão foi encontrado para a massa corpórea inicial com o fator de discriminação isotópico. A Tabela 51 mostra os valores da massa corpórea inicial e dos fatores de discriminação isotópico de cada indivíduo e os valores médio respectivos. O fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas não apontou nenhuma relação com a massa corpórea inicial (F = 4,50; p = 0,08; r^2 = 0,33) e (F = 0,28; p = 0,618; r^2 = -0,12). O mesmo aconteceu com o $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ do plasma em relação à massa corpórea inicial (F = 0,12; p = 0,740; r^2 = -0,14) e (F = 0,62; p = 0,468; r^2 = -0,05) (Figura 54).

Tabela 51 - Massa corpórea inicial e fator de discriminação do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* adultos

Indivíduos	**Massa Corpórea inicial (g)**	**Células vermelhas** $\Delta^{13}C$	**Células vermelhas** $\Delta^{15}N$	**Plasma** $\Delta^{13}C$	**Plasma** $\Delta^{15}N$
1-M	2692	0,56	2,69	1,87	4,25
2-F	1615	0,91	3,26	2,06	4,65
3-F	2469	0,33	2,65	1,70	4,10
4-F	2507	2,53	4,45	2,00	4,00
5-F	2163	1,40	3,27	2,01	4,39
6-M	2209	0,43	3,11	1,47	4,17
9-M	3745	2,89	4,07	2,41	4,43
11-M	3565	2,24	3,03	1,54	4,09
Média ± DP	**2620,63 ± 715,86**	**1,41 ± 0,95**	**3,32 ± 0,59**	**1,88 ± 0,29**	**4,26 ± 0,21**

Figura 54 - Regressão linear do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma e da massa corpórea inicial dos indivíduos adultos (n = 8) de *Salvator merianae*

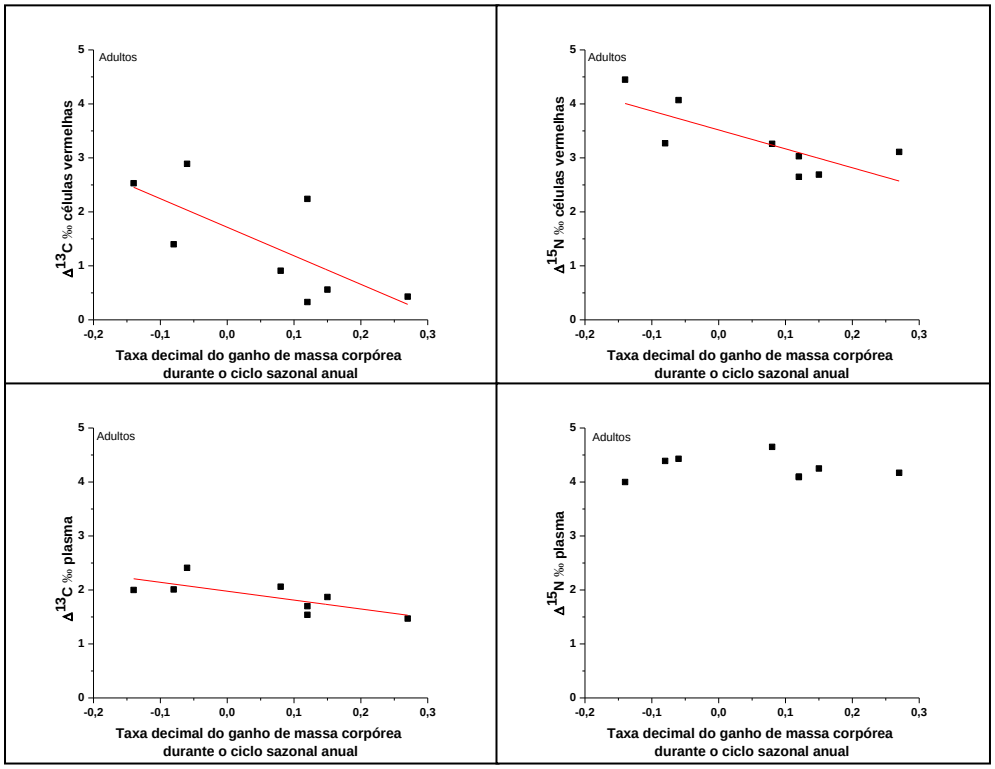


O mesmo procedimento foi realizado com o índice corporal e com o fator de discriminação isotópico. A Tabela 52 mostra os valores do índice biométrico e dos fatores de discriminação isotópico de cada indivíduo e os valores médio respectivos. O fator de discriminação isotópico do carbono e nitrogênio das células vermelhas apontou relação com a taxa decimal do ganho de massa corpórea (F = 6,43; p = 0,044; r^2 = 0,44) e (F = 8,37; p = 0,030; r^2 = 0,51). Porém, o $\Delta^{13}C$ do plasma apresentou relação significativa com a taxa decimal do ganho de massa corpórea (F = 7,32; p = 0,040; r^2 = 0,47), no entanto o $\Delta^{15}N$ do plasma não mostrou nenhuma relação (F = 0,05; p = 0,836; r^2 = -0,16) (Figura 55).

Tabela 52 - Taxa de ganho decimal de massa corpórea e fator de discriminação do carbono e nitrogênio das células vermelhas e do plasma de *Salvator merianae* adultos

Indivíduos	ΔM_c	Células vermelhas $\Delta^{13}C$	Células vermelhas $\Delta^{15}N$	Plasma $\Delta^{13}C$	Plasma $\Delta^{15}N$
1-M	0,15	0,56	2,69	1,87	4,25
2-F	0,08	0,91	3,26	2,06	4,65
3-F	0,12	0,33	2,65	1,70	4,10
4-F	-0,14	2,53	4,45	2,00	4,00
5-F	-0,08	1,40	3,27	2,01	4,39
6-M	0,27	0,43	3,11	1,47	4,17
9-M	-0,06	2,89	4,07	2,41	4,43
11-M	0,12	2,24	3,03	1,54	4,09
Média ± DP	**0,06 ± 0,13**	**1,41 ± 0,95**	**3,32 ± 0,59**	**1,88 ± 0,29**	**4,26 ± 0,21**

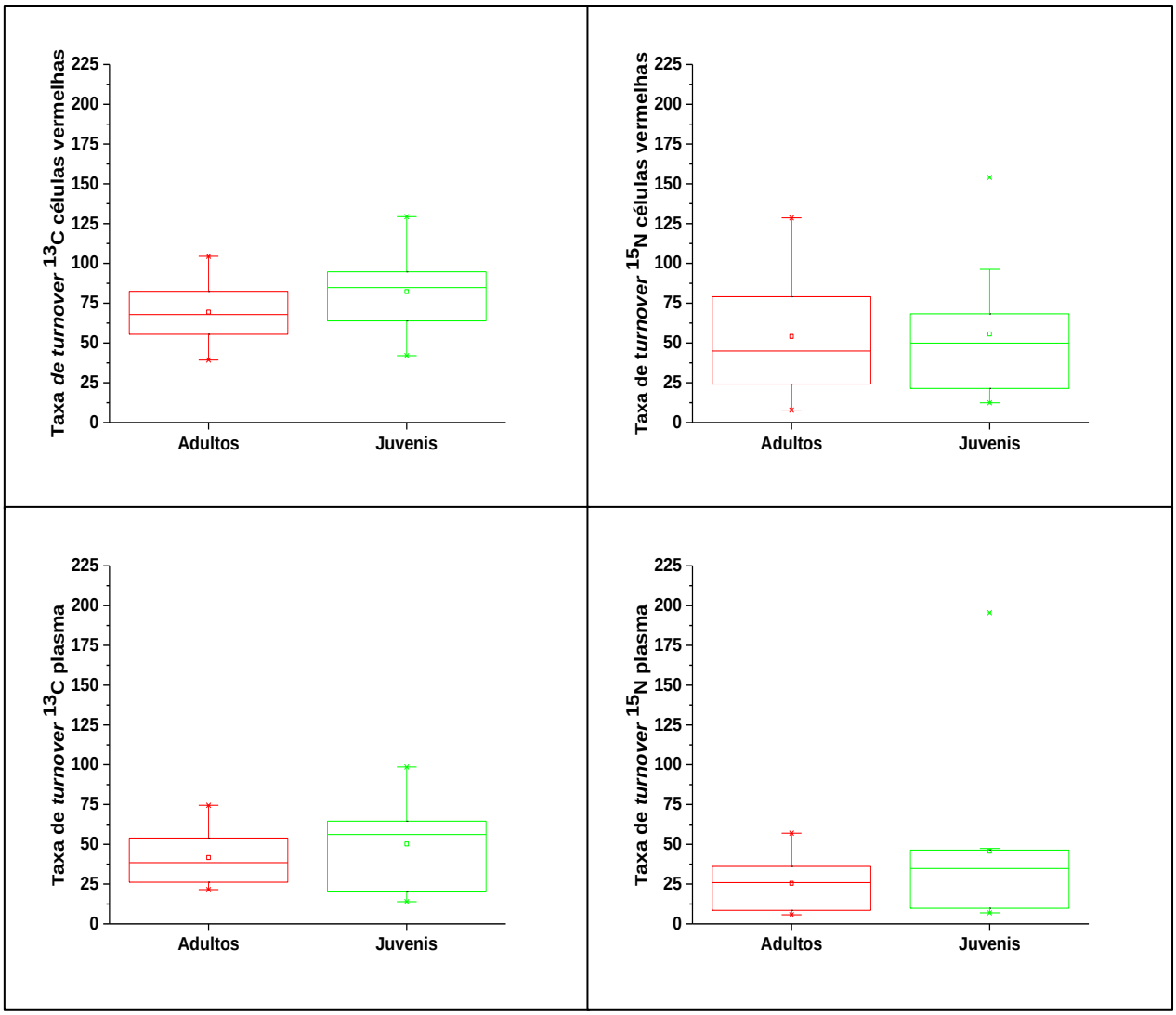
Figura 55 - Regressão linear do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma e da taxa decimal de ganho de massa corpórea dos indivíduos adultos (n = 8) de *Salvator merianae*



4.7. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre adultos e juvenis de *Salvator merianae*

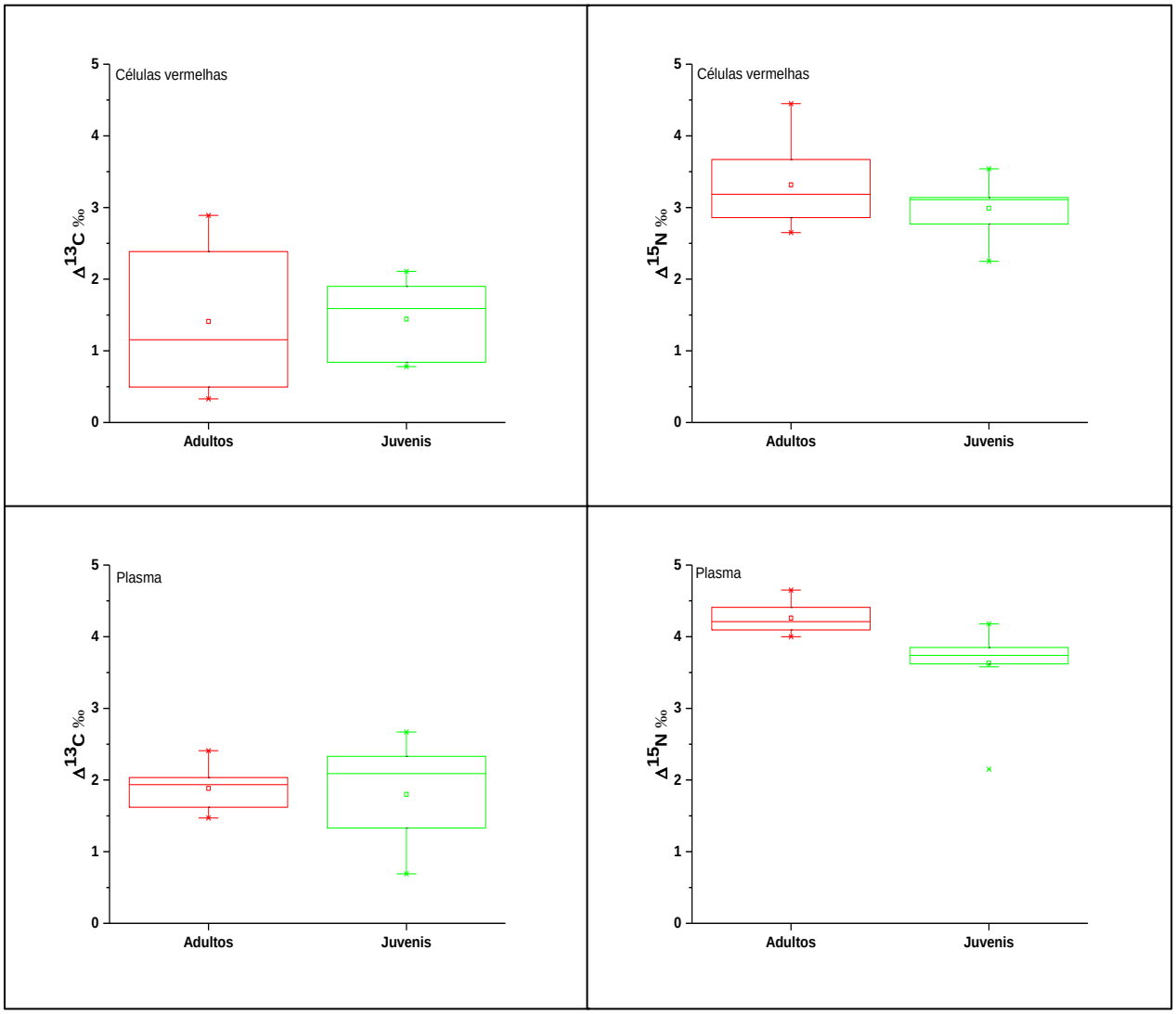
Não houve diferença significativa entre os adultos e juvenis tanto em relação à taxa de turnover de ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas (Adultos = 69,41 ± 20,42 dias; Juvenis = 82,28 ± 26,81 dias; t = -1,08; gl = 14; p = 0,298; Adultos = 54,09 ± 39,69 dias; Juvenis = 55,65 ± 46,94 dias; t = -0,07; gl = 15; p = 0,942) respectivamente, quanto para o ^{13}C e ^{15}N do plasma (Adultos = 41,64 ± 18,25 dias; Juvenis = 50,21 ± 28,23 dias; t = -0,73; gl = 15; p = 0,475; Adultos = 25,47 ± 18,07 dias; Juvenis = 45,66 ± 58,35 dias; t = -0,94; gl = 15; p = 0,364) (Figura 56).

Figura 56 - Box-plot da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma de Adultos (N = 8) e Juvenis (N = 9) de *Salvator merianae*



A mesma comparação entre adultos e juvenis foi realizada com o fator de discriminação isotópico. Não houve diferença significativa entre os adultos e juvenis em relação ao fator de discriminação isotópico $\Delta^{13}C$ - $\Delta^{15}N$ das células vermelhas (Adultos = 1,41 ± 1,02‰; Juvenis = 1,44 ± 0,56‰; t = -0,08; gl = 14; p = 0,938; Adultos = 3,32 ± 0,63‰; Juvenis = 2,99 ± 0,38‰; t = 1,30; gl = 15; p = 0,212) respectivamente. O mesmo correu para o $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ do plasma (Adultos = 1,88 ± 0,30‰; Juvenis = 1,80 ± 0,71‰; t = 0,30; gl = 15; p = 0,766); (Adultos = 4,26 ± 0,22‰; Juvenis = 3,63 ± 0,58‰; t = 2,86; gl = 15; p = 0,052) (Figura 57).

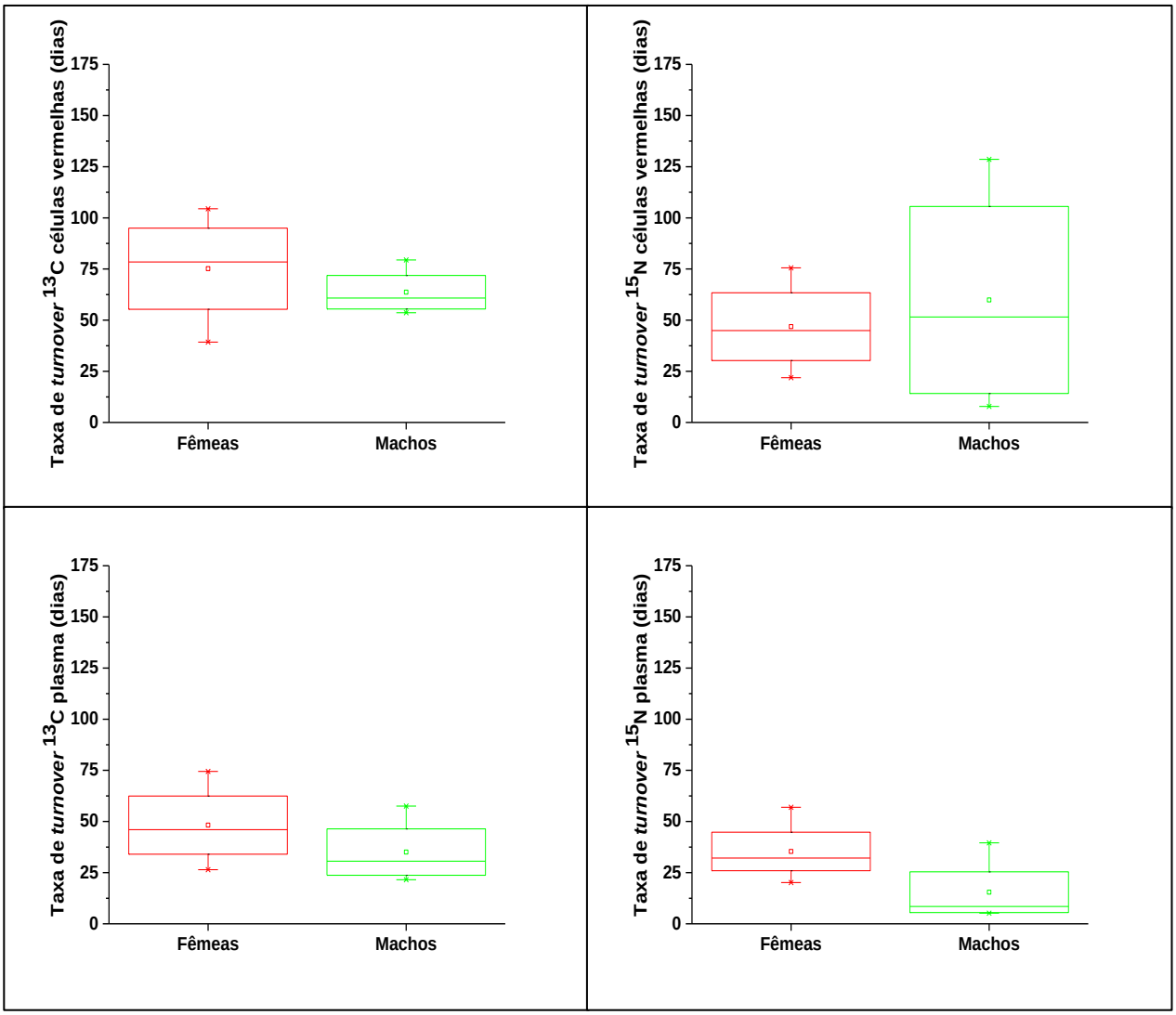
Figura 57 - Box-plot do fator de discriminação isotópico do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma de Adultos (N = 8) e Juvenis (N = 9) de *Salvator merianae*



4.8. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre fêmeas e machos de *Salvator merianae*

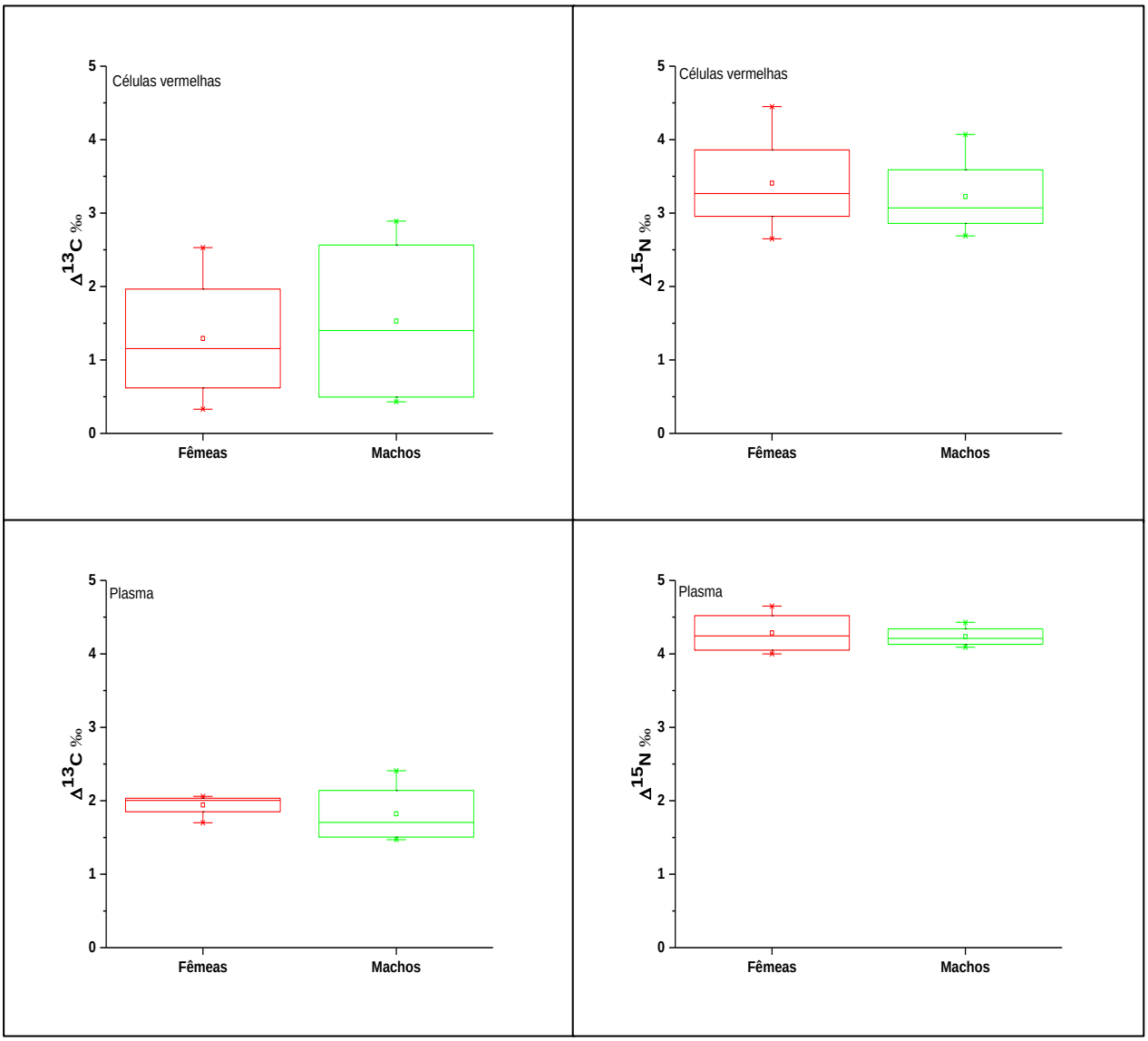
Não houve diferença significativa entre fêmeas e machos tanto em relação à taxa de turnover de ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas (♀ = 75,15 ± 27,48 dias; ♂ = 63,66 ± 11,40 dias; t = 0,77; gl = 6; p = 0,469; ♀ = 46,83 ± 22,62 dias; ♂ = 59,87 ± 56,25 dias; t = -0,43; gl = 6; p = 0,682) respectivamente, quanto para o ^{13}C e ^{15}N do plasma (♀ = 48,23 ± 20,11 dias; ♂ = 35,05 ± 16,04 dias; t = 1,02; gl = 6; p = 0,345; ♀ = 35,35 ± 15,48 dias; ♂ = 15,44 ± 16,31 dias; t = 1,77; gl = 6; p = 0,126) (Figura 58).

Figura 58 - Box-plot da taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma de Fêmeas (N = 4) e Machos (N = 4) de *Salvator merianae*



O fator de discriminação isotópico ($\Delta^{13}C$ - $\Delta^{15}N$) das células vermelhas também não apresentou diferença significativa entre fêmeas e machos (♀ = 1,29 ± 0,93‰; ♂ = 1,53 ± 1,23‰; t = -0,31; gl = 6; p = 0,768; ♀ = 3,41 ± 0,75‰; ♂ = 3,23 ± 0,59‰; t = 0,38; gl = 6; p = 0,716) respectivamente. O mesmo ocorreu para o ^{13}C e ^{15}N do plasma (♀ = 1,94 ± 0,16‰; ♂ = 1,82 ± 0,43‰; t = 0,52; gl = 6; p = 0,620); (♀ = 4,29 ± 0,29‰; ♀ = 4,24 ± 0,15‰; t = 0,30; gl = 6; p = 0,771) (Figura 59).

Figura 59 - Box-plot do fator de discriminação isotópico do $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma de Fêmeas (N = 4) e Machos (N = 4) de *Salvator merianae*



5. DISCUSSÃO

5.1. Elaboração da nova dieta

Os adultos apresentaram maior comprimento total e massa corpórea que os juvenis conforme o esperado (DONADIO; GALLARDO, 1984). O tamanho corpóreo dos indivíduos é um dos principais fatores determinantes da ecologia dos animais devido a sua capacidade de influenciar processos ecológicos como a exploração de recursos alimentares e uso do habitat (PETERS; WASSENBERG, 1983; OSENBERG; MITTELBACH, 1996). No início do experimento os lagartos teiús estavam no seu segundo ciclo de vida, portanto sua massa corpórea foi relativamente 3 vezes menor e o comprimento total 1,5 vezes ínfimo que a dos indivíduos adultos.

A composição isotópica do carbono das células vermelhas não apresentou diferença significativa, no entanto, a composição isotópica do carbono do plasma foi diferente entre os adultos e juvenis, sendo uma diferença de 0,24 ‰. A base da utilização dessa metodologia consiste no fato de que a composição isotópica do carbono dos tecidos animais deve refletir a composição isotópica dos seus alimentos (DENIRO et al., 1978; 1981; CRAWFORD; MCDONALD; BEARHOPS, 2008). Assim, essa diferença que ocorreu no plasma entre adultos e juvenis pode ter sido devido à dieta ao longo de suas vidas não ser uma mistura homogenia de carne de frango com a ração do coelho ou devido à necessidade nutricional individual.

A composição isotópica do nitrogênio dos indivíduos juvenis foi mais leve do que a dos adultos, tanto para células vermelhas, quanto para o plasma em 1,28‰ e 0,91‰ respectivamente. Segundo Martinez Del Rio e Wolf (2005), os animais em crescimento, apontam o modelo do balanço nitrogenado positivo, durante o crescimento a incorporação do nitrogênio nos tecidos excede a perda do nitrogênio pelas excretas nitrogenadas, e, portanto, a sua composição isotópica do nitrogênio será menor do que os animais que não estão em fase de crescimento que apresentam um balanço nitrogenado neutro. No entanto, nesse experimento não foi analisado a excretas nitrogenadas, mesmo assim, parece haver um forte indício de que esses animais apontam esse modelo pelo menos no início do segundo ciclo de vida.

5.2. Sazonalidade – Pré dormência e despertar

A conseqüência mais óbvia de um longo período de privação de alimentos durante o período de dormência sazonal é a perda de massa corporal (MCCUE 2010). No entanto, com base na demanda metabólica específica de massa, indivíduos menores teriam uma taxa

metabólica específica mais elevada e perderiam mais massa do que indivíduos maiores (MCNAB, 1999).

Foi relatado anteriormente uma perda de massa corporal de 15% em teiús jovem em curso no primeiro período de dormência (SOUZA et al., 2004), indicando que existe um efeito ontogênico na perda de massa corporal. Neste caso, o teiús de dois anos apresentou diferenças ontogenico na perda de massa. Os juvenis apontaram uma perda de 13% de massa corpórea em contrapartida de 6% de perda dos adultos.

A composição isotópica do nitrogênio dos juvenis no período do despertar apontaram um enriquecimento de 0,30 ‰ para as células vermelhas e 0,70‰ para o plasma, enquanto os adultos não mostraram nenhuma diferença entre os períodos para a $\delta^{15}N$ das células vermelhas, no entanto, apresentou enriquecimento de 0,43‰ para $\delta^{15}N$ do plasma. (CHEREL et al., 2005) encontrou um enriquecimento na $\delta^{15}N$ das células vermelhas de pinguim rei adultos de 0,24 ‰ e no plasma de 0,70 ‰, semelhante aos teiús jovens do experimento e de acordo, com os resultados em gansos encontrados por (HOBSON et al., 1993). Além do mais, esses resultados estão de acordo com (CHEREL; HOBSON; WEIMERSSHURCK, 2000) que sugere que embora o jejum prolongado seja marcado por uma redução na síntese proteica e degradação de proteínas, ainda é suficiente para induzir a longo prazo o enriquecimento da $\delta^{15}N$ dos tecidos através do consumo do glicogênio hepático e aminoácidos endógenos provenientes da musculatura esquelética.

Contudo, Souza et al. (2004) e Haddad (2007), verificaram que a concentração do β-hidroxibutirato foi duas vezes maior no período de dormência em relação ao período de atividade mostrando que boa parte dos lipídios são mobilizados a fim, de produzir corpos cetônicos para suprir os tecidos como cérebro e coração. Nesse mesmo estudo os autores apontaram que para a manutenção dos tecidos glicose-dependentes foi complementada pela gliconeogênese, tendo os aminoácidos das proteínas musculares destinados ao percurso da produção de corpos cetônicos, visto pelo aumento do piruvato e dos corpos cetônicos na corrente sanguínea (SOUZA et al., 2004; HADDAD, 2007). Segundo Beloto (2013) (dados não publicados) a concentração de ácido úrico circulante em teiús adultos no período de dormência foi reduzida em 66% em relação ao período de atividade. O mesmo foi encontrado por Cherel et al. (2005), durante o jejum prolongado de 25 dias pinguim rei adulto apresentou os níveis de β-hidroxibutirato elevados e baixas concentrações de ácido úrico circulante.

Cherel et al. (2005) apontou em seu trabalho com filhotes de pinguim rei um empobrecimento na $\delta^{13}C$ no plasma, sugerindo a utilização de lipídios na produção de energia durante a privação de alimento. No entanto, com os teiús juvenis e adultos desse trabalho não foi encontrado diferença significativa na $\delta^{13}C$ tanto para células vermelhas como para o plasma nos períodos amostrados. Segundo Gaye-Siessegger et al. (2004), argumenta que a diminuição nos valores da $\delta^{13}C$ ocorrem devido a utilização das reservas lipídicas para suprir energia durante o jejum ou inanição. Esses lagartos durante o processo de dormência sazonal apresentam uma redução de 60-90% da sua taxa metabólica basal (SANDERS et al., 2015), e diante disso, pode ter ocorrido a utilização dos lipídios na produção de energia para suprir o jejum prolongado, no entanto, não o suficiente para o método utilizado no experimento ter detectado esse consumo.

Assim sendo, parece ser vantajoso para a espécie utilizar um misto da reserva lipídica e reservas endógenas dos aminoácidos provenientes da musculatura esquelética na produção de energia diante de uma taxa metabólica muito baixa. Preservando desta forma, os lipídios restantes para alocação na reprodução que ocorre logo em seguida do período em que despertam, até mesmo porque quando emergem de suas tocas retomam a alimentação e desta forma, podem reparar o organismo.

5.3. Taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis e adultos de *Salvator merianae*

A taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas dos juvenis e dos adultos de *S. merianae* apresentaram a meia vida de 79,57 e 34,88 dias e 66,84 e 43,38 dias respectivamente. O plasma tanto para juvenis como adultos apontaram a taxa de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N mais rápida do que as células vermelhas, 41,64 e 20,83 dias e 38,77 e 22,78 dias respectivamente. Semelhante ao da literatura, o plasma aponta uma taxa de *turnover* mais rápido que as células vermelhas (HOBSON; CLARK, 1993).

Warne, Gilman e Wolf (2010) trabalhou com duas espécies de lagartos *Sceloporus undulatus* e *Crotaphytus collaris* adultos. A espécie menor (12g) *S. undulatus* atingiu a meia vida do carbono das células vermelhas em 61 dias e do plasma em 25 dias. A espécie maior (47g) *C. collaris* mostrou uma meia vida do carbono mais lenta para células vermelhas de 311 dias e 44 dias para o plasma. Era esperado que a espécie *S. merianae* juvenis e adultos desse experimento apresentassem uma taxa de *turnover* de ^{13}C das células vermelhas e do plasma mais lentas que a *S. undulatus* e *C. collaris* devido ao seu maior tamanho de massa

corpórea, no entanto, os valores foram mais rápido que dos indivíduos *C. collaris* e pouco mais lento que a dos lagartos *S. undulatus*.

A taxa de *turnover* tanto do ^{13}C e ^{15}N dos tecidos dos animais variam entre os táxons. Os fatores que podem influenciar as taxas de *turnover* apontadas pela literatura são o tamanho corporal, crescimento e taxa de *turnover* da proteína (MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). Um estudo de Carleton e Martinez Del Rio (2005), mostrou que a taxa fracionada da incorporação isotópica (λ) no sangue de 8 espécies de aves diminuiu em relação do tamanho da massa corpórea em aproximadamente -¼. No entanto, esse modelo somente se aplica a animais adultos com crescimento mínimo ou nulo (Martinez Del Rio et al., 2009).

Sendo assim, essas variações podem ocorrer pelo efeito combinado do tamanho corpóreo em massa com a taxa de crescimento (MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). Todavia, no caso dos lagartos teiús juvenis do experimento a taxa de crescimento foi mínima, e muitos desses indivíduos após o despertar já estavam prontos para a reprodução e se enquadrando a sub-adultos. Diante disso, a taxa de crescimento não deve ter sido a principal influência nos valores das taxas de *turnover* dos indivíduos.

Contudo, os lagartos teiús no período reprodutivo apresentam um aumento na temperatura de 5 a 6ºC acima da temperatura ambiente e se mantem constante semelhante aos endotérmicos e, esse aumento da temperatura é sustentado pela elevação de 5 vezes na taxa metabólica desses animais durante esse período (TATTERSALL et al., 2016) e exigindo uma razão entre a síntese e degradação da proteína mais rápida (MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). Provavelmente a endotermia facultativa que essa espécie apresenta no período reprodutivo pode influenciar a taxa de *turnover* de ^{13}C das células vermelhas e do plasma desses indivíduos, mostrando diferenças em relação a taxa de *turnover* do carbono dos lagartos *C. collaris* e semelhanças ao dos *S. undulatus.*

Estudos apontam que a temperatura ambiental pode ser um determinante importante entre os ectotérmicos (FRY; ARNOLD, 1982; HESSLEIN; HALLARD; RAMIAL, 1993; BOSLEY et al., 2002). Os ectotérmicos terrestres são suscetíveis a experimentar um gradiente de temperatura mais complexo e variado com temperaturas mais elevadas do que os animais aquáticos devido a sua oportunidade de assoalhar e poupar suas fontes de calor radiante (SHINE, 2005). Em estudos com peixes adultos de crescimento rápido em águas frias a meia vida do carbono do tecido muscular foi de 365 dias, no entanto, com peixe zebra de crescimento rápido adulto mantido em água a uma temperatura de 28,5ºC a meia vida do carbono do tecido muscular foi de 56 dias.

Sendo assim, entre os ectotérmicos aquáticos e semiaquáticos, a espécie de *S. merianae* apontou a taxa de *turnover* do ^{13}C das células vermelhas bem distinta do *Alligator mississipiensis* em 3,5 vezes menor (ROSENBLAT et al., 2012). Porém, foi semelhante ao valor da taxa de *turnover* das células vermelhas do carbono em *Caretta caretta* com uma meia vida de 53 dias (REICH; BJORDAL; MARTINEZ DEL RIO, 2008). Sendo a taxa de *turnover* do ^{13}C do plasma distinto dos demais (ROSENBLAT et al., 2012; REICH; BJORDAL; MARTINEZ DEL RIO, 2008).

A taxa de *turnover* do ^{15}N das células vermelhas dos teiús juvenis e adultos foram semelhantes à espécie rã *Lithobates clamitans* apontando uma meia vida de 39 dias (CLOYED; NEWSOMW; EASON, 2015), entretanto foram distintas na taxa de *turnover* do ^{15}N do plasma da espécie *C. caretta* 16 dias (REICH; BJORDAL; MARTINEZ DEL RIO, 2008) e *A. mississipiensis* 62 dias (ROSENBLAT et al., 2012).

Diante das comparações não parece que as temperaturas e modos de termorregulação entre o ambiente aquático x terrestre sejam a causa das variações entre os táxons. Essas variações podem ter ocorrido devido a razão da síntese e degradação da proteína e assim sendo, espera-se que a manutenção e regulação dessas proteínas possam influenciar as taxas de *turnover* isotópico tanto do carbono como do nitrogênio (LOBLEY, 2003; MARTINEZ DEL RIO et al., 2009).

Os lagartos teiús juvenis e adultos apresentaram $\Delta^{13}C$ das células vermelhas 1,43‰ e 1,25‰, no entanto, o $\Delta^{13}C$ do plasma foi 2,10‰ e 1,87‰. E os valores de $\Delta^{15}N$ para juvenis e adultos das células vermelhas 3,05‰ e 3,44‰ e do plasma 3,93‰ e 4,34‰ respectivamente. No demais, não foi encontrado um padrão nos valores do fator de discriminação tanto para carbono como nitrogênio nos táxons das literaturas. Esse fato deve ter ocorrido porque o fator de discriminação isotópico da dieta para o tecido parece estar ligado com os processos biológicos associados à discriminação química e física e não com taxas metabólicas, crescimento, temperatura e taxas de *turnover* de proteínas (WARNE; GILMAN; WOLF, 2010).

Os indivíduos de *C. collaris*, demostraram valores do $\Delta^{13}C$ das células vermelhas em 1,2‰, seguido da *C. caretta* juvenis 1,53‰, (WARNE; GILMAN; WOLF, 2010; REICH; BJORDAL; MARTINEZ DEL RIO, 2008). Entretanto, foram totalmente distintos os $\Delta^{13}C$ das células vermelhas de *Chelonia mydas* 0,30‰, *S. undulatus* -1,1‰ e *A. mississipiensis* 0,03‰ (SEMINOFF et al., 2006; WARNE; GILMAN; WOLF, 2010; ROSENBLAT et al., 2012).

O $\Delta^{13}C$ do plasma foi distinto dos lagartos teiús em todos os táxons, apontando os valores *C. collaris* 0,20‰, *S. undulatus* -0,50‰, *C. mydas* 0,24 e *A. mississipiensis* -0,65‰. O $\Delta^{15}N$ das células vermelhas apresentado por *C. mydas* foi 2,48‰ (SEMINOFF et al., 2006), e para *Trachemys scripta* 3,80 ‰ (SEMINOFF; BJORDAL; BOLTEN, 2007). O $\Delta^{15}N$ do plasma foi 4,17‰ para *C. mydas* e 2,50‰ para *T. scripta* (SEMINOFF et al., 2006; SEMINOFF; BJORDAL; BOLTEN, 2007).

A variabilidade no fator de discriminação de carbono e nitrogênio em táxons já foram reportados anteriormente, podendo apresentar uma variação de $\Delta^{13}C$ ‰ (-0,4 – 7,9 ‰) e $\Delta^{15}N$ ‰ (-0,1 - 4‰) (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2009). Entretanto, os resultados de outros experimentos também revelaram diferenças consistentes no fator de discriminação no carbono e nitrogênio que podem ser explicados por diferentes propriedades como exemplo, idade, qualidade e proporção de dieta, onívoria, herbívoria e carnívoria, tipos dos tecidos (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2008; VANDERKLIFT; PONSARD, 2003). Nos itens abaixo essas variações serão explicadas com mais detalhes.

5.4. Variação intraespecífica na taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico de juvenis e adultos de *Salvator merianae*

Os teiús juvenis e adultos apontaram uma variação intraespecífica na incorporação tanto do carbono e do nitrogênio das células vermelhas e do plasma. Foi realizado assim, uma análise individual para verificar se a diferença estava correlacionada com a massa corpórea inicial e o índice decimal de ganho ou perda de massa corpórea com a taxa de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N e com de $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma.

Os dados não apontaram nenhuma correlação entre a massa corpórea inicial e a taxa decimal de ganho ou perda de massa corpórea com a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma, esse resultado era esperado porque o fator que poderia influenciar é a síntese e degradação de proteínas (MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). No entanto, esse fato somente ocorreria se a ingestão (g dia $^{-1}$) fosse comprometida e esses indivíduos utilizassem a reserva proteica endógena. Proporcionando um déficit na massa corpórea como aconteceu com os indivíduos juvenis e adultos que não se adaptaram a nova dieta e morreram.

Entretanto, os dados mostraram somente correlação com a taxa decimal de ganho e perda de massa com o $\Delta^{13}C$ do plasma para os juvenis. Entre esses animais, alguns indivíduos não apresentaram um ganho de massa expressivo, no entanto, todos na entrada da pré-

dormência tinham adquirido peso em relação ao início do experimento. Neste caso, somente o carbono do plasma, por ter uma característica da dieta mais recente mostrou a relação.

Todavia, os adultos apresentaram uma relação das $\Delta^{13}C$ das células vermelhas e do plasma e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas entre a taxa decimal de ganho ou perda da massa corpórea. Entre esses indivíduos, houve aqueles que entraram na pré dormência com um saldo negativo de massa corpórea em relação ao início do experimento. Entretanto, a dieta foi baseada em uma mistura de difícil separação, não houve competição e o alimento fornecido tinha proporção suficiente para todos os indivíduos.

Nesse sentido, segundo a literatura foram formuladas duas hipóteses para explicar a variação no $\Delta^{15}N$ e $\Delta^{13}C$. A primeira hipótese diz que a quantidade de proteína pode influenciar o fator de discriminação isotópico, à medida que o teor (%) de proteína ou a ingestão (g dia $^{-1}$) aumenta, consequentemente o $\Delta^{15}N$ e $\Delta^{13}C$ se eleva (PEARSON et al., 2003; MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). A segunda hipótese aborda a qualidade da proteína, à medida que a qualidade aumenta o $\Delta^{15}N$ aumenta (ROTH; HOBSON, 2000; ROBBINS; FELICETTI; SPONHEIMER, 2005; ROBBINS; FELICETTI; FLORIN, 2010; FLORIN; FELICETTI; ROBBINS, 2011). Florin, Felicetti e Robbins (2011), em sua abordagem sugere que alimentos proteicos com diluição na quantidade de proteínas podem influenciar o fator de discriminação isotópico do nitrogênio. Assim, Florin, Felicetti e Robbins (2011) em seu trabalho com ratos verificou que quando a dieta com alto teor proteico a base de carne foi diluída com amido e sacarose, os animais ganharam mais peso e apontaram um $\Delta^{15}N$ menor.

No entanto, essas análises foram realizadas no grupo de ratos e não individual como nesse experimento. Entretanto, faz sentido para os lagartos teiús, a dieta deles foi uma mistura de 50% de carne de frango (Alta qualidade da proteína e alto valor proteico) e 50% de farelo de soja (Baixa qualidade da proteína e alto teor proteico), além desses o farelo de soja também tem em sua composição uma fração lipídica rica em ácidos graxos poli-insaturados, carboidratos e sacarose (ZAMBOM et al., 2001) mas, não explica a variação intraespecífica.

Segundo Caut, Angulo e Courchamp (2007) explica através do roteamento isotópico que a variação entre os fatores de discriminação do carbono e do nitrogênio pode ocorrer porque a proteína (x) da dieta (x) pode ser preferencialmente incorporado pelo tecido (x) do animal, sendo da mesma forma com os lipídios e carboidratos. As diferenças nos valores isotópicos das proteínas, lipídios e carboidratos das dietas misturadas podem resultar em discriminação variadas entre os animais. Ademais, nesse experimento houve a entrada de duas fontes distintas de proteínas com composição isotópica de carbono e nitrogênio diferentes (animal e vegetal),

no entanto, somente o farelo de soja pode ter contribuído com carboidrato, diante disso, entre os indivíduos ficou evidente uma variação entre os $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ nos mesmos tecidos e o índice corpóreo.

Sendo assim, uma hipótese simples diante deste contexto foi que houve maior utilização de proteínas vegetais, carboidrato e sacarose, por alguns lagartos. Propiciando o menor $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ com o emprego da proteína de baixa qualidade proveniente do farelo da soja, e o uso do carboidrato e sacarose na produção de energia, e o excedente do carboidrato foram armazenados em forma de glicogênio e triglicerídeos e assim, ocorreu um maior ganho de massa corpórea. No entanto, a variação intraespecífica continua pendente de uma possível hipótese mais consistente.

Contudo, em busca de explanação, a quarta possibilidade foi que essa pouca utilização da proteína vegetal, carboidrato e sacarose pode ter ocorrido devido a uma tendência a carnívoria persistente por alguns indivíduos. Devido à aquicultura, um número significativo de trabalhos foi relatado em diversas espécies de peixes em relação ao controle da homeostase da glicose (POLAKOF; MOMMSEN; SOENGAS, 2011). Mesmo as espécies carnívoras serem menos tolerantes a glicose do que as onívoras, a programação nutricional em relação a digestão de carboidratos foi descrita como positiva (POLAKOF; MOMMSEN; SOENGAS, 2011). Os mecanismos para a digestão, absorção e metabolismo da glicose não foram apontados como diferentes entre os peixes carnívoros, onívoros e herbívoros. Entretanto a abundância e a regulação dietética envolvidas na utilização dos carboidratos parecem ser influenciados pela introdução potencial em seu suprimento na dieta na alimentação natural já precocemente (POLAKOF; MOMMSEN; SOENGAS, 2011; ARAMENDI; INFANTE-ZAMBONINO; PANSERAT, 2007).

Aramendi, Infante-Zambonino e Panserat (2007) verificou em seu experimento com truta arco íris, peixes carnívoros, que um estímulo hiperglicídicas incorporado em dieta precocemente em seu estágio de desenvolvimento influenciou permanentemente a digestão de carboidratos. O inverso pode ter ocorrido com alguns lagartos teiús desse experimento em cativeiro, recebendo durante a fase de transição de carnívoria para onívoria, quando ainda ocorria a plasticidade fisiológica, uma dieta rica em proteínas e muito pobre em carboidratos. Gerando dessa forma, essa aparente intolerância a dieta com a presença de proteínas vegetais, carboidratos e sacarose elevando o $\Delta^{13}C$ e o $\Delta^{15}N$.

O fator de discriminação do nitrogênio do plasma não apontou correlação com a massa corpórea inicial e tão pouco com o índice corpóreo dos indivíduos adultos. Em teiús filhotes foi

verificado que o tamanho da massa do tecido adiposo pode afetar tanto o consumo de energia como o substrato endógeno preferencial (SOUZA et al., 2004). O nível de catabolismo proteico se relacionou com a massa corpórea em teiús pequenos com capacidade limitada para armazenar gordura (SOUZA et al., 2004). Os autores sugeriram que o ganho de massa corpórea para essa fase é muito importante, porque os lipídios podem ser usados como fonte endógena para produção de energia poupando os tecidos musculares esqueléticos, que dependendo do índice em sua utilização pode propiciar danos severos nesses animais que acordam e retomam o crescimento.

No entanto, não parece ser o índice corpóreo a principal relação com a utilização da fonte endógena proteica e sim, a entrada de nitrogênio mais pesado da reserva endógena para os sub-adultos e adultos. Os dados parecem apontar que com a entrada do nitrogênio proteico endógeno mais pesado do que o nitrogênio da dieta no início da pré dormência elevou o fator de discriminação dos indivíduos que possuíam um $\Delta^{15}N$ menor deixando os valores mais homogêneos. No entanto, esperava-se que os indivíduos com menor massa corpórea também apresentassem esse aumento no $\Delta^{15}N$ do plasma, mas não foi o apontado pela regressão. Nesse contexto pode ter ocorrido uma regulação no nível de catabolismo proteico a fim, de preservar a musculatura esquelética. Diante disso, parece ser que em sub-adultos e adultos o que influencia o $\Delta^{15}N$ do plasma é a utilização da reserva endógena e o controle de catabolismo, poupando o tecido adiposo para o processo de alocação na reprodução e o muscular devido a danos severos que possam comprometer sua mobilidade após o despertar da dormência.

5.5. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre juvenis e adultos de *Salvator merianae*

Não foi encontrado diferença significativa entre juvenis e adultos entre a taxa de turnover ^{13}C e ^{15}N e fator de discriminação isotópico $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma. Esses valores já eram esperados devido a faixa etária dos indivíduos juvenis.

Estudos anteriores explanaram que a taxa de *turnover* do ^{13}C e ^{15}N podem ser influenciadas pelo tamanho corporal em massa, crescimento e taxa de *turnover* da proteína (MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). E o fator de discriminação isotópico pode variar além dos táxons e entre os tecidos, podendo variar também em relação à idade, qualidade da dieta, e proporção da dieta (CAUT; ANGULO; COURCHAMP, 2007; MARTINEZ DEL RIO et al., 2009). Esses indivíduos foram mantidos em condições seminaturais e, portanto, a temperatura

ambiente não teve como influenciar os dados. A dieta administrada tanto em valor nutricional como na proporção para esses indivíduos foi a mesma como exemplificado no item anterior.

Martinez Del Rio et al. (2009) propôs que a taxa de *turnover* pode variar fortemente em função do tamanho corpóreo em massa, sendo que a mesma seria mais rápida para animais menores e o inverso para os animais maiores. Zandel et al. (2015) verificou em seu estudo que para os ectotérmicos a meia vida do ^{13}C e ^{15}N ficou mais rápida previsivelmente com o tamanho do corpo menor, propondo um modelo empírico simples para estimá-la.

No entanto, esses animais não apresentaram qualquer diferença. Isso deve ter ocorrido porque o que pode influenciar nos teiús é o padrão sazonal no ganho de massa entre filhotes e adultos. Como esses indivíduos estavam dentro do mesmo patamar dos adultos a sazonalidade do ganho de massa passou a ser semelhante, apontaram a taxa de crescimento muito lenta e provavelmente estavam apresentando a endotermia facultativa para o período de reprodução. Sendo assim, a hipótese seria de que os valores encontrados seriam similares entre os juvenis e adultos.

5.6. Comparação da taxa de *turnover* e fator de discriminação isotópico entre machos e fêmeas de *Salvator merianae*

Mesmo machos e fêmeas apresentando diferenças nas necessidades reprodutivas e suas alocações, não foi encontrado diferença significativa na a taxa de turnover ^{13}C e ^{15}N e no $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma. Esperava-se que não houvesse diferença devido as necessidades reprodutivas entre os sexos ocorrerem antes da meia vida do carbono e nitrogênio apontar no experimento. Kurle et al. (2009) em sua pesquisa com ratos não encontrou diferença entre o $\Delta^{13}C$ entre machos e fêmeas, por outro lado, para o $\Delta^{15}N$ encontrou diferença, sendo os machos com valores menores, resultado atribuído a fase de crescimento. No entanto, todos os indivíduos fêmeas e machos do experimento são sexualmente maturo e o crescimento praticamente nulo.

Os teiús machos após o processo de dormência sazonal também apresentam mudanças morfológicas como o aumento do musculo pterigoideos de 1% - 4% equivalentes na massa corpórea (NARETTO et al., 2014). Entretanto essas mudanças que envolvem construção de tecido proteico no início do experimento, sendo a contribuição pela dieta ou por fonte endógena, não foram o suficiente para alterar a taxa de *turnover* do ^{15}N dos machos em relação as fêmeas.

A literatura aponta as diferenças na alocação das reservas, e apontam todas como custosas para o animal. A produção do esperma e crescimento gonodal para os machos são caros energicamente (OLSSON et al., 2002), além deste, ocorre um aumento da produção da testosterona de 20 a 30 vezes (OLSSON et al., 2002). As fêmeas apontam um investimento de aproximadamente 40% da sua massa corporal durante o processo reprodutivo e produção de ovos (LOPES, 1986).

Além do mais, a endotermia é um processo dispendioso, e animais que apresentam precisam ingerir mais alimento que outros que não apresentam a mesma, pois, para manter sua temperatura constante necessitam de processos metabólicos que demandam grande quantidade de energia (SCHIMDT - NIELSEN, 2011). Todavia, os lagartos teiús apresentam a endotermia facultativa quando emergem da dormência sazonal sem se alimentar, começando o processo de alimentação em paralelo. Mas os resultados levam a hipótese de que a fonte endógena lipídica foi o principal percursor da alocação de recursos para a reprodução e produção de energia de ambos os sexos, devido a esse processo ocorrer já no início do período reprodutivo, sendo a alimentação uma contribuição mínima para as alocações.

Tattersall et al. (2016) sugeriu que a endotermia facultativa reprodutiva pode ser vista como simples processos genéticos compartilhado a prole de ambos sexos sem a ligação a cromossomos sexuais. Provavelmente o mesmo acontece com o ganho de massa corporal sazonal, sendo um evento programado que antecede o processo de dormência sazonal, sem ligação com cromossomos sexuais e relacionado com as necessidades reprodutivas e elevada taxa metabólica que ocorre concomitante nesse período, deixando a fonte exógena somente para reparar o organismo. Todavia, a fim de um esclarecimento maior necessita-se de mais estudos.

6. CONCLUSÕES

Nesse experimento não foi levantando dados em relação as excretas nitrogenadas, no entanto, os indivíduos juvenis apontaram a composição isotópica do nitrogênio mais pobre em relação aos adultos. Esses dados eram esperados, pois, estavam no início do segundo ciclo de vida e ainda apresentavam taxa de crescimento mínima.

No período de dormência sazonal os lagartos teiús juvenis e adultos apontam uma redução da taxa metabólica em torno de 60-90%, sendo assim, a utilização dos lipídios para produção de energia deve ter sido pequena, ao ponto de não ser identificada pelo método utilizado, por isso não houve diferença na composição isotópica do carbono. Entretanto, a síntese proteica e degradação mesmo sendo mínima, foram suficientes para enriquecer a composição isotópica do nitrogênio do plasma tanto para os juvenis, como para os adultos.

Na literatura não houve um padrão entre as comparações dos valores das taxas de turnover ^{13}C e ^{15}N e $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ dos táxons, sejam em espécies de lagartos ou entre ectotérmicos terrestres x aquáticos. Entre as espécies de lagartos da literatura em relação aos lagartos teiús do experimento, a influência na taxa de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N das células vermelhas e do plasma parece estar relacionado à endotérmica facultativa que eleva em até 5 vezes a taxa metabólica, aumentando desta forma, a síntese proteica e a degradação e consequentemente a sua taxa de *turnover*. Entre os táxons ectotérmicos terrestres x aquáticos, novamente parece ser a síntese proteica e a degradação e não a temperatura do ambiente. A não padronização dos valores de $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ encontrados na literatura entre os ectotérmicos podem ter sido influenciados por diferentes fatores que não foram levados em consideração nesse estudo, que são idade, qualidade, teor e tipo de dieta, carnívoria, onívoria e herbívoria.

Três indivíduos adultos, sendo duas fêmeas e um macho não ganharam massa corpórea no final do experimento, ou seja, terminaram o experimento com uma massa corpórea menor que apresentavam no início. Esses lagartos apresentaram os valores de $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ mais elevado do que os indivíduos que apesentaram o índice de massa corpórea positivo. Diante deste, a variação parece estar sobre a influência da intolerância aos carboidratos presente na dieta. Todavia há necessidade de estudos que envolvam o entendimento da fase de transição de carnívoria para onívoria que esses lagartos apresentam durante a ontogenia. O fator de discriminação de nitrogênio do plasma dos juvenis e dos adultos não apontou correlação com a massa corpórea inicial e nem com o índice de ganho ou perda de massa corpórea. Em vista disso, o $\Delta^{15}N$ do plasma parece ser influenciado pela utilização das reservas endógenas e pelo controle do catabolismo.

Os lagartos teiús juvenis e adultos não presentaram diferenças significativas entre as suas taxas de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N e dos $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma. Esses dados já eram esperados porque no final do experimento os juvenis estavam aptos a entrarem no período de reprodução após emergir do processo de dormência se enquadrando a categoria de sub-adultos.

Machos e fêmeas de *S. merianae* apresentaram valores similares entre suas taxas de turnover de *turnover* de ^{13}C e ^{15}N e dos $\Delta^{13}C$ e $\Delta^{15}N$ das células vermelhas e do plasma. Esse fato deve ter ocorrido porque o período de reprodução ocorre após emergirem do processo de dormência e a alocação para reprodução ter sua maior contribuição da fonte endógena.

REFERÊNCIAS

ABE, A. S. Observations on dormancy in tegu lizards – *Tupinambis teguixim* (Reptilia, Teiidae). **Naturalia**, Rio Claro, v. 8, p. 235-239, 1983.

ABE, A. S. Estivation in South American amphibians and reptiles. Brazil. **International Journal of Biological and Medical Research**, Coimbatore, v. 28, p. 1241−1247, 1995.

ALVES, R. R. N.; NISHIDA, A. K. A ecdise do caranguejo-uça, *Ucides cordatus*. (Decapoda, Brachyura) na visão dos caranguejos. **Interciência**, Caracas, v. 27, p. 110-117, 2002.

ALVES, R. R. N.; PEREIRA-FILHO, G. A. Commercialization and use of snakes in North and Northeastern Brazil: implications for conservation and management. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 16, p. 969-985, 2007.

ANDRADE, D. V.; SANDERS, C.; MILSOM, W. K.; ABE, A.S. Overwintering in tegu lizards. In: INTERNATIONAL HIBERNATION SYMPOSIUM, 20., 2004, Fairbanks, Alaska. **Life in the cold**: evolution, mechanisms, adaptation, and application. Fairbanks, Alaska: University of Alaska, Institute of Arctic Biology, 2004. (Biological Papers of the University of Alaska, 27).

ARAMENDI, I. G. M.; INFANTE-ZAMBONINO, J.; PANSERAT, S. Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhunches mykiss*) with a hiperglucide diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 292, p. R2275-R2283, 2007.

BEN-DAVID, M, FLAHERTY, E. A. Theoretical and analytical advances in mammalian isotope ecology: an introduction. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 93, p. 309-311, 2012.

BENNETT, E. L.; ROBINSON, J. G. Huting for sustainability: the start of a syntheses. In ROBINSON, J. G. BENNETT, E. L. (Ed.). **Huting for sustainability in tropical forests.** New York: Columbia University Press, 1999. p. 36-56. (Biology and Resource Management Series).

BOSLEY, K.; WITTING, D. A.; CHAMBERS, R. C.; WAINRIGHT, S. C. Estimating turnover rates of carbon and nitrogen in recently metamorphosed winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* with stable Isotopes. **Marine Ecology Progress Series**, Oldendorf, v. 236, p. 233-240, 2002.

BOWEN, G. J.; WASSENAAR, L. I.; HOBSON, K. A. Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics. **Oecologia**, Berlin, v. 143, p. 337-348, 2005.

CAUT, S.; ANGULO, E.; COURCHAMP, F. Discrimination factor ($\Delta^{15}N$ and $\Delta^{13}C$) in an omnivorous consumer: effect of diet isotope ratio. **Functional Ecology**, Oxford, v. 22, p. 255-263, 2007.

CAUT, S.; ANGULO, E.; COURCHAMP, F. Caution on isotopic model use for analyses of consumer diet. **Canadian Journal Zoology**, Ottawa, v. 86, p. 438-445, 2008.

CAUT, S.; ANGULO, E.; COURCHAMP, F. Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}N$ and $\Delta^{13}C$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. **The Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 46, p. 443-453, 2009.

CARLETON, S. A.; MARTINEZ DEL RIO, C. The effect of cold-induced increased metabolic rate on the rate of 13C and 15N incorporation in house sparrows (*Passer domesticus*). **Oecologia**, Berlin, v. 144, p. 226-232, 2005.

CERLING, T. E.; WITTEMYER, G.; RASMUSSEN, H. B.; VOLLRATH, F.; CERLING, C. E.; ROBINSON, T. J.; DOUGLAS-HAMILTON, I. Stable isotopes in elephant hair document migration patterns and diet changes. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India**, Allahabad, Uttar Pradesh, v. 103, p. 371-373, 2006.

CHEREL, Y.; HOBSON, K. A.; WEIMERSSHURCK, H. Using stable-isotope analyses of feathers to distinguish mounting and breeding origins of seabirds. **Oecologia**, Berlin, v. 122, p. 155-200, 2000.

CHEREL, Y.; HOBSON, K. A.; BAILLEUL, F.; GROSCOLAS, R. Nutrition, Physiology and stable isotopes: new information from fasting and molting penguins. **Ecology**, Washington, DC, v. 86, p. 2881-2888, 2005.

CLOYED, C. S.; NEWSOMW, S. D.; EASON, P. K. Trophic discrimination factors and incorporation rates of carbon and nitrogen stable isotopes in adult's green frogs, *Lithobates clamitans*. **Physiological and Biochemical Zoology**, Chicago, v. 88, n. 5, p. 576-585, 2015.

COSTA, D. Osmoregulation. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. (Ed.). **Encyclopedia of Marine Mammals**. San Diego: Academic Press, 2009. p. 801-806.

CRAWFORD, K.; MCDONALD, R. A.; BEARHOPS, S. Aplications of stable isotope techniques to the ecology of mammals. **Mammal Review**, Hoboken, v. 38, p. 87-107, 2008.

DALERUM, F.; ANGERBJÖRN, A. Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes. **Oecologia**, Berlin, v. 144, p. 647–658, 2005.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 42, p. 495-506, 1978.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 45, p. 341:351, 1981.

DONADIO, O. E.; GALLARDO, J. M. Biologia y conservatión de las espécies del gênero Tupinambis (Squamata, Sauria, Teiidae) em la Republica Argentina. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernadino Rivadavia" Zoologia**, Buenos Aires, v. 13, p. 117-127, 1984.

EMBERT, D.; FITZGERALD, L.; WALDEZ, F. *Salvator merianae*. In: THE INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE – IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species 2010**: e.T178340A7526681. Cambridge, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T178340A7526681.en. Acesso em: 22 jan. 2016.

ETHIER, D. M.; KYLE, C. J.; KYSER, T. K.; NOCERA, J. J. Variability in the growth patterns of the cornified law sheath among vertebrates: implications for using biogeochemistry to study animal movement. **Canadian Journal Zoology**, Ottawa, v. 88, p. 1043-1051, 2010.

FARQUHAR, G. D.; EHLERINGER, J. R.; HUBICK, K. T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 503-537, 1989.

FLORIN, S. T.; FELICETTI, L. A.; ROBBINS, C. T. The biological basis for understanding and predicting dietary-induced variation in nitrogen and Sulphur isotope ratio discrimination. **Functional Ecology**, Oxford, v. 25, p. 519-526, 2011.

FTZGERALD, L. A. *Tupinambis* lizard and people: a sustainable and development. **Conservation Biology**, Boston, v. 8, p. 12-15, 1984.

FRY, B.; ARNOLD, C. Rapid $^{13}C/^{12}C$ turnover during growth of brown shrimps (*Penaeus aztecus*). **Oecologia**, Berlin, v. 54, p. 200-204, 1982.

FRY, B. **Stable isotope ecology**. New York: Springer Science & Business Media, 2006.

FULLER, B. T.; FULLER, J. L.; SAGE, N. E.; HARRIS, D. A.; O'CONNELL, T. C.; HEDGES, R. E. M. Nitrogen balance and $\delta^{15}N$: why you're not what you eat during nutrition stress. **Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM**, London, v. 19, p. 2497-2506, 2005.

HADDAD, L. S. **O papel dos lipídios na reorganização metabólica associada à dormência sazonal em lagartos teiú *Tupinambis merianae* (Sauria, Teiidae).** 2007. 81 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Turnover of ^{13}C in cellular and plasma fractions of blood: implications for nondestructive sampling in avian dietary studies. **The Auk**, Chicago, v. 110, p. 638-641, 1993.

GAYE-SIESSEGGER, J.; FOCKEN, V.; MUETZEL, S.; ABEL, H.; BECKER, K. Feeding level and individual metabolic rate affect $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in carps: implications for food web studies. **Oecologia**, Berlin, v. 138, p. 175-183, 2004.

GAYE-SIESSEGGER, J.; FOCKEN, U.; ABEL, Hj.; BECKER, A. K. Starvation and low feeding levels result in an enrichment of ^{13}C in lipids and ^{15}N in proteins of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Fish Biology**, London, v. 71, p. 90-100, 2007.

GANNES, L. Z.; MARTINEZ DEL RIO, C.; KOUCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v. 119, p. 725-737, 1998.

HANAZAKI, N.; ALVES, R. R. N.; BEGOSSI, A. Hunting and use of terrestrial fauna used by caiçaras from the Atlantic Forest coast (Brasil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, London, v. 5, p. 1-36, 2009.

HANDLEY, L. L.; SCRIMGEOUR, C. M.; THORNTON, S.F.; SPRENT, J. I. Determination of the natural abundances of the stable isotopes of ^{15}N and ^{13}C by mass spectrometry: A simplified manual method for the preparation of N^2 and CO^2. **Functional Ecology**, Oxford, v. 5, p. 119-124, 1991.

HESSLEIN, R. H.; HALLARD, K. A.; RAMIAL, P. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad white fish (*Corigonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}S$, $\delta^{13}C$, and $\delta^{15}N$. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 50, n. 10, p. 2071-2076, 1993.

HERTZ, E.; TRUDEL, M.; COX, M. K.; MAZUMDER, A. Effects of fasting and nutritional restriction on the isotopic rations of nitrogen and carbon: a meta-analysis. **Ecology and Evolution**, Oxford, v. 5, n. 21, p. 4829-4839, 2015.

HOBSON, K. A.; CLARK, R.W. Assessing avian diets using stable isotopes: Turnover of carbon-13. **The Condor**, Lawrence, v. 181, p.188-199, 1992.

IP, Y. K.; CHEW, S. F. Nitrogen metabolism and excretion during aestivation. **Progress in Molecular and Subcellular Biology**, New York, v. 49, p. 63-94, 2010.

LAYMAN, C. A.; ARAUJO, M. S.; BOUCEK, R.; PEYER – HAMMERSCHLAG, C. M.; HARRISON, E.; JUD, R. R.; MATUCH, P.; ROSENBLATT, A. E.; VANDO, J. J.; YEAGER, L. A.; POST, D.; BEARHOP, S. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. **Biological Reviews**, London, v. 87, p. 545-562, 2012.

LOBLEY, G. E. protein turnover – what does it mean for animal production? **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 83, n. 3, p. 327-340, 2003.

LOPES, H. R.; ABE, A. S. Biologia reprodutiva e comportamento do teiú, *Tupinambis merianae*, em cativero (Reptilia, Teiidae). In FANG, T. G.; MONTENEGRO, O. L.; BODMER, R. E. (Ed.). **Manejo y conservación de fauna silvestre en América Latina.** La Paz, Bolivia: Editorial Instituto e Ecología, 1999. p. 259-272.

KAPLAN, H. Techniques of collection in ectothermic of body fluids, excreta and vital products for laboratory examination**. Laboratory Animal Care**, Baltimore, v. 18, p. 131-142, 1968.

KURLE, C. M. Interpreting temporal variation in omnivore foraging ecology via stable isotope modelling. **Functional Ecology**, Oxford, v. 23, p. 733-744, 2009.

MARTINEZ DEL RIO, C.; WOLF, B. O. Mass-balance models for animal isotopic ecology. In: MATHIAS, J. S.; WANG, T. (Ed.). **Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates.** New Hampshire: Science Publisher, 2005.

MARTINEZ DEL RIO, C.; WOLF, N.; CARLETON, S. A.; GANNES, L. Z. Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. **Biological Reviews**, London, v. 84, p. 91-111, 2009.

MAGNUSSON, W. E.; ARAÚJO, M. C.; CINTRA, R.; LIMA, A. P.; MARTINELLI, L. A.; SANAIOTTI, T. M.; VASCONCELOS, H. L.; VICTORIA, R. L. Contributions of C3 and C4 plants to higher trophic levels in an Amazonian savanna. **Oecologia**, Berlin, v. 119, p. 91-96, 1999.

MACAVOY, S. E.; MACKO, S. A.; ARNESON, L. S. Growth versus metabolic tissue replacement in mouse tissues determined by stable carbon and nitrogen isotope analysis. **Canadian Journal Zoology**, Ottawa, v. 83, p. 631-641, 2005.

McCUE, M. Starvation physiology: reviewing the different strategies animals use to survive a commom challenge. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, London, v. 156, n. 1, p. 1-18, 2010.

McCUTCHAN, J. H.; LEWIS, W. M.; KENDALL, C.; McGRATH, C. C. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. **Oikos**, Copenhagen, v. 102, p. 378-390, 2003.

McNAB, B. K. On the comparative ecological and evolutionary significance of total and mass-specific rates of metabolism**. Physiological and Biochemical Zoology**, Chicago, v. 72, n. 5, p. 642-644, 1999.

MINAGAWA, M.; WADA, E. Step-wise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\Delta^{15}N$ its and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 48, p. 1135-1140, 1984.

NARETTO, S.; CARDOZO, G.; BLENGINI, C. S.; CHIARAVIGLIO, M. Sexual selection and dynamics of jaw muscle in Tupinambis lizards. **Evolutionary Biology**, Heidelberg, v. 41, p. 192-200, 2014.

NEWSOME, S. D.; MARTINEZ DEL RIO, C.; BEARHOP, S.; PHILLIPS, D. L. A niche for isotope ecology. **Frontiers in Ecology and the Environment**, Washington, DC, v. 5, p. 429-436, 2007.

OSENBERG, C. W.; MITTELBACH, G. G. The relative importance of resource limitation and predator limitation in food chain. In: POLIS G. A.; WINEMILLER, K. O. (Ed.). **Food webs**. Boston: Springer, 1996.

OLSSON, M.; SHINE, R.; WAPSTRA, E.; UJVARI, B.; MADSEN, T. Sexual dimorphism in lizard body shape: the roles of sexual selection an fecundity selection. **Evolution**, Hoboken, v. 56, n. 7, p. 1538-1542, 2002.

ORTIZ, R. M. Osmoregulation in marine mammals. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 204, p. 1831-1844, 2001.

PETERS, R. H.; WASSENBERG, K. The effect of body size on animal abundance. **Oecologia**, Berlin, v. 60, p. 89-96, 1983.

PETERSON, B. J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 293-232, 1987.

PINTO, L. C. L.; MATEUS, M. B.; PIRES, M. R. S. Conhecimentos e usos da fauna terrestre por moradores rurais da Serra do Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil. **Interciência**, Caracas, v. 37, p. 520-527, 2012.

PHILLIPS, D. L.; GREGG, J. W. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. **Oecologia**, Berlin, v. 27, p. 171-179, 2001.

POLAKOF, S.; MOMMSEN, T. P.; SOENGAS, J. L. Glucosensing and glucose homeostasis: from fishes to mammals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, London, v. 160, p. 123-149, 2011.

POLISCHUK, S. C.; HOBSON, K. A.; RAMSAY, M. A. Use of stable carbon and nitrogen isotopes to asses weaning and fasting in female polar bears and their cubs. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 79, n. 3, p. 499-511, 2001.

RAMOS, R.; GONZÁLEZ-SOLÍS, J. Trace me if you can: the use of intrinsic biogeochemical markers in marine top predators. **Frontiers in Ecology and the Environment**, Washington, DC, v. 10, p. 258-266, 2012.

REICH, R. J.; BJORDAL, K. A.; MARTINEZ DEL RIO, C. Effects of growth and tissue type on the kinetics of ^{13}C and ^{15}N incorporation in a rapidly growing ectotherm. **Oecologia**, Berlin, v. 155, p. 651-663, 2008.

ROBBINS, C. T.; FELICETTI, L. A.; SPONHEIMER, M. The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds. **Oecologia**, Berlin, v. 144, p. 534-540, 2005.

ROBBINS, C. T.; FELICETTI, L. A.; FLORIN, S. T. The impact of protein quality on stable nitrogen isotope ration discrimination and assimilated dieta estimation. **Oecologia**, v. 162, p. 571-579, 2010.

ROSENBLATT, A. E.; HEITHAUS, M. R. Slow isotope turnover rates and low discrimination values in the American Alligator: implications for interpretation of ectotherm stable isotopes data. **Physiological and Biochemical Zoology**, Chicago, v. 86, n. 1, p. 137-148, 2013.

ROTH, J. D.; HOBSON, K. A. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: implications for dietary reconstruction. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 78, n. 5, p. 848-852, 2000.

SANDERS, C. E.; TATTERSALL, G. J.; REICHERT, M.; ANDRADE, D. V.; ABE, S. A.; MILSONA, W. K. Daily and annual cycles in thermoregulatory behaviour and cardio-

respiratory physiology of black and white tegu lizards. **Journal of Comparative Physiology Part B**, Berlin, v. 185, p. 905-915, 2015.

SEMMINOFF, J. A.; JONES, T. T.; EGUCCHI, T.; JONES, R. R.; DUTTON, P. H. Stable isotope discrimination ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$) between soft tissues of the green sea turtle *Chelonia mydas* and its diet. **Marine Ecology Progress Series**, Oldendorf, v. 308, p. 271-278, 2006.

SEMINOFF, J. A.; BJORDAL, K. A.; BOLTEN, A. B. Stable carbon and nitrogen isotope discrimination and turnover in pod sliders *Trachemys scripta*: insights for trophic study of freshwater turtles. **Copeia**, New York, n. 3, p. 534-542, 2007.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal:** adaptação e meio ambiente. São Paulo: Santos, 2011.

SHINE, R. Life history evolution in reptiles. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 36, p. 23-46, 2005.

SILVA, J. J.; DUCATTI, C.; COSTA, C. Aplicação do modelo sigmoidal de Boltzmann na análise do $\delta^{13}C$ nas fezes de cordeiro. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 14, p. 225-233, 2007.

SOUZA, S. C. R.; CARVALHO, J. E.; ABE, A. S.; BICUDO, A. E. P. W.; BIANCONCINI, M. S. C. Seasonal metabolic depression substrate utilization and changes in scaling patterns during the first-year cycle of tegu lizards *Tupinambis merianae***. Journal of Experimental Biology**, London, v. 207, p. 307-318, 2004.

STENVINKEL, P.; et al. Metabolic changes in summer active and anuria hibernation free-ranging brown bears (*Ursus arctos*). **PloS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 9, e72934, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0072934.

STOREY, K. B.; STOREY, J. M. Metabolic rate depression in animals: transcriptional and translational controls. **Biological Reviews**, London, v. 79, p. 207-233, 2004.

TATTERSALL, G. J.; LEITE, C. A. C.; SANDERS, C. E.; CADENA, V. ANDRADE, D.V.; ABE, A. S.; MILSON, W. K. Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards. **Science Advances**, Washington, DC, v. 2, e1500951, 2016. DOI: 10.1126/sciadv.1500951.

TIESZEN, L. L.; BOUTTON, T. W.; TESDAHL, K. G.; SLADE, N. A. Fractionation and turnover of stable carbono isotopes in animal tissues: Implications for $\delta^{13}C$ analyses of diet. **Oecologia**, Berlin, v. 57, p. 32-37, 1983.

VANDERKLIFT, M. A.; PONSARD, S. Sources of variation in consumer-diet $\Delta^{15}N$ enrichment: a meta-analysis. **Oecologia**, Berlin, v. 136, p. 169-182, 2003.

VANZOLINI, P. E.; RAMOS-COSTA, M. M.; VITT, L. J. **Répteis da Caatinga**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1980. 161 p.

WARNE, R. W.; GILMAN, C. A.; WOLF, B. O. Tissue-Carbon Incorporation Rates in Lizards: Implications for Ecological Studies Using Stable Isotopes in Terrestrial Ectotherms. **Physiological and Biochemical Zoology**, Chicago, v. 83, p. 608–617, 2010.

ZANDEN, M. J. V.; CLAYTON, M. K.; MOODY, E. K.; SOLOMON, O. T.; WEIDEL, B. C. Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: a literature synthesis. **Plos ONE**, São Francisco, v. 10, n. 1, e0116182, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0116182.