



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE
ALIMENTOS



SHAYNE PEDROZO BISETTO

**Avaliação das atividades locomotora e nociceptiva diárias e sazonais de lagartos
mantidos em condições ambientais controladas**

Pirassununga

2016

SHAYNE PEDROZO BISETTO

Avaliação das atividades locomotora e nociceptiva diárias e sazonais de lagartos mantidos em condições ambientais controladas

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biociência Animal

Orientador: Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro

Pirassununga

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B621a Bisetto, Shayne Pedrozo
Avaliação das atividades locomotora e nociceptiva
diárias e sazonais de lagartos mantidos em condições
ambientais controladas / Shayne Pedrozo Bisetto ;
orientador Adriano Bonfim Carregaro. --
Pirassununga, 2016.
72 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Biociência Animal) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. *Salvator merianae*. 2. *Iguana iguana*. 3. Ritmo
circadiano. 4. Ritmo circanual. 5. Comportamento
animal. I. Carregaro, Adriano Bonfim, orient. II.
Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Shayne Pedrozo Bisetto

Título: Avaliação das atividades locomotora e nociceptiva diárias e sazonais de lagartos mantidos em condições ambientais controladas

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Daniele dos Santos Martins

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP

Assinatura: _____

Prof^ª. Dr^ª. Kênia Cardoso Bicego

Instituição: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal

Assinatura: _____

Prof^ª. Dr^ª. Selma Maria de Almeida Santos

Instituição: Instituto Butantan

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Elizabeth e Pedro, que dedicaram suas vidas às suas filhas, garantindo que conquistássemos nossos sonhos. À minha irmã Yule, minha eterna companheira na caminhada que é a vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, **Elizabeth** e **Pedro**, pela dedicação imensurável e pelo o apoio interminável; por me permitirem seguir o meu sonho, por tolerarem a distância e a saudade todos esses anos sem reclamação e por sempre me socorrerem nos momentos de dificuldade. Obrigada por serem meus exemplos e por serem os pais maravilhosos que são. Cada conquista minha é meramente um reflexo de sua dedicação.

À minha irmã **Yule**, minha companheira, melhor amiga e parte de mim, pelos ensinamentos, pela proteção e pela tolerância. Obrigada por preencher a janela que deixei todos esses anos que estive distante e por nunca deixar a distância abalar o nossa amizade.

À meu orientador **Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro** por todos esses anos de ensinamentos e orientação. Agradeço por todas as oportunidades e por ter confiança em meu trabalho como acadêmica, como bióloga e como veterinária, mesmo quando eu não possuía confiança em mim mesma.

Agradeço a toda minha família. A meu padrasto **José Gonçalves**, e aos meus irmãos **Pedro** e **Sofia**, pelo amor e pelo carinho. Agradeço aos meus avós, **Maria de Lourdes** e **Ubirajara**, pelo exemplo de companheirismo, de força e de dedicação. Aos membros da família **Pedrozo** e da família **Bisetto**, por sempre torcerem por mim pelos bastidores.

Agradeço também à minha família pirassununguense, por me darem forças nos momentos difíceis e por me fazerem rir nos momentos de estresse:

À **Thaís Feres Bressan**, minha amiga, minha companheira e minha professora nesses últimos três anos. Obrigada pelos ensinamentos, pelo apoio constante, pelos socorros e pelas risadas. Minha batalha em Pirassununga seria muito mais tortuosa sem você ao meu lado.

Ao meu amigo **André Nicolai da Silva**, eterno exemplo de competência e profissionalismo, mas também de alegria e descontração. Obrigada por sempre estar disposto a compartilhar seu vasto conhecimento, seu amor pela vida e seu amor pelos nossos queridos animais selvagens.

Ao meu amigo **William Petroni Leal**, pelo companheirismo, pelas brincadeiras e até pelas brigas. Obrigada por sempre buscar me encorajar e também por me mostrar a beleza do mundo dos répteis.

À minha querida amiga **Beatriz Kiihl Roque**, pela amizade, pelas cervejas e por sempre ouvir os meus desabafos nas épocas mais estressantes.

Aos meus colegas da pós-graduação **Bárbara Ferrari** e **Paulo Fantinato**, por sempre estarem prontos para me socorrer quando eu mais precisava.

Aos novos integrantes da pós-graduação do NAVE, **Jefferson Cordeiro** e **Nathalia Xavier**. Obrigada pela companhia nesse último ano e pela ajuda nesses últimos meses. Confio em vocês para manter nosso NAVE a mesma loucura de sempre.

Aos queridos alunos de graduação e às aprimorandas NAVE, que são parte fundamental de nosso grupo. Obrigada pela amizade, pela ajuda e pela confiança.

A todos os residentes e funcionários do hospital veterinário UDCH, em especial ao amigo **Neimar dos Santos**, todos sempre prontos para oferecer uma mão amiga nos tempos de necessidade.

Aos meus queridos amigos da graduação, pelo carinho e por compreenderem minha ausência durante esses anos de dedicação ao meu mestrado.

Aos meus queridos mestres, do primário à pós-graduação, do Colégio Agostiniano Mendel ao Instituto de Biociências USP e à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos USP. Obrigada por me ensinarem a beleza de ser mestre e me inspirarem a seguir essa profissão apaixonante.

À FZEA e à Universidade de São Paulo pelo suporte técnico-científico e pela infra-estrutura.

À FAPESP pelo apoio financeiro que me permitiu me dedicar a essa pesquisa.

Ao lagartário da UNESP de Rio Claro e ao prof. Dr. Augusto Shinya Abe por fornecer os animais utilizados no estudo e pelo apoio técnico-científico.

E finalmente aos meus queridos teiús e às iguanas, que foram peças essenciais no desenrolar desse trabalho.

“Se você não pode voar, corra, se não pode correr, ande, se não pode andar, engatinhe. O que você não pode é deixar de seguir em frente.”

Martin Luther King Jr

RESUMO

BISETTO, S.P. Avaliação das atividades locomotora e nociceptiva diárias e sazonais de lagartos mantidos em condições ambientais controladas. 2016, 72p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

O uso de répteis como modelos experimentais é limitado, principalmente devido às particularidades fisiológicas da classe, como as oscilações diárias e sazonais em seu comportamento. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade locomotora e nociceptiva de teiús (*Salvator merianae*) e iguanas-verdes (*Iguana iguana*) submetidos a testes comportamentais, ao longo do dia e do ano. Foram utilizados seis exemplares de cada espécie, mantidos em sala com temperatura ambiental (24 a 30°C) e fotoperíodo (12h:12h) controlados. Esses foram avaliados ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h, 18:00h) e ao longo do ano (análise mensal). A análise locomotora foi realizada através do teste de campo aberto (teiús e iguanas), no qual o animal foi colocado no centro de uma arena circular por 15 minutos, e recebeu um ponto por cada ultrapassagem pelas subdivisões da mesma; e pelo teste de natação forçada (iguanas), no qual o tempo de atividade foi mensurado em piscina sem saída por 2 minutos. A resposta nociceptiva foi avaliada por meio de mensuração do período de latência do membro em resposta a estímulo nocivo térmico (25 segundos; 245 ± 7 mW/cm²) na superfície plantar do membro do animal. Não foram detectadas oscilações ao longo do ano no teste de campo aberto em nenhuma das espécies. Ao longo do dia, oscilações foram detectadas de Fevereiro a Dezembro em teiús; e em Abril, Maio, Junho e Outubro em iguanas. O tempo de atividade das iguanas foi menor em Janeiro e às 0:00h. Maiores latências de retirada do membro foram observadas nos meses de Maio e Agosto e às 6:00h em ambas espécies. Conclui-se que teiús e iguanas-verdes em ambiente controlado apresentam oscilações significativas em comportamento observado em teste de campo aberto, teste de natação forçada (somente iguanas) e teste plantar, que aparentemente não seguem padrões anuais claros, sendo provavelmente influenciado por fatores múltiplos ainda não compreendidos para as espécies.

Palavras-chave: *Salvator merianae*, *Iguana iguana*, ritmo circadiano, ritmo circanual, teste de campo aberto, teste de natação forçada, teste plantar.

ABSTRACT

BISETTO, S.P. Evaluation of daily and seasonal locomotor and nociceptive activities of lizards under controlled environmental conditions. 2016, 72p. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

The use of reptiles as experimental models is limited due to their physiological particularities, such as daily and annual fluctuations in behavior. The aim of this study was to evaluate locomotor and nociceptive activities of tegus (*Salvator merianae*) and green iguanas (*Iguana iguana*) throughout the day and the year, when undergoing behavioral tests. Six animals from each species, kept under controlled room temperature (24 to 30°C) and photoperiod (12h:12h), were used. They were evaluated throughout the day (0:00h, 6:00h, 12:00h and 18:00) and the year (monthly). Locomotor activity was measured by the open field test, in which the animal was placed in the center of a round arena for 15 minutes and the number of crossings through the subdivisions of the arena was counted, and by the forced swim test (iguanas), in which the activity period was timed after animals were placed in a pool with no escape for 2 minutes. Nociceptive activity was measured as the latency to limb withdrawal reflex in response to a noxious thermal stimulus (25 seconds, 245 ± 7 mW/cm²) in the plantar surface of the animal's limb. No differences were detected in locomotor activity in the open field test throughout the year in both species. Throughout the day, fluctuations were detected from February to December in tegus, and in April, May, June and October in iguanas. Activity period in iguanas were shorter in January and at 0:00h. Longer latencies to withdrawal reflex were detected in May and August and at 6:00h in both species. In conclusion, tegus and green iguanas kept in controlled environment have fluctuations in behavior presented in the open field test, the forced swim (only iguanas) test and the plantar test, which apparently do not follow a clear seasonal pattern and are probably influenced by multiple factors that are still unknown for both species.

Keywords: *Salvator merianae*, *Iguana iguana*, circadian rhythm, circannual rhythm, open field test, forced swim test, plantar test.

SUMÁRIO

1	Introdução.....	10
2	Objetivos.....	11
2.1	Gerais.....	11
2.2	Específicos.....	12
3	Revisão de literatura.....	12
3.1	Os Répteis.....	12
3.1.1	Particularidades Fisiológicas.....	13
3.1.2	O Teiú (Salvator merianae).....	15
3.2	Répteis como Modelos Experimentais.....	18
3.3	Testes Comportamentais.....	20
3.3.1	Teste do Campo Aberto.....	21
3.3.2	Natação forçada.....	22
3.3.3	Teste Plantar.....	23
4	Material e métodos.....	25
4.1	Animais.....	25
4.2	Perfis Diário e Sazonal de Atividade.....	28
4.3	Testes Comportamentais.....	28
4.3.1	Teste de Campo Aberto.....	29
4.3.2	Teste de Natação Forçada.....	30
4.3.3	Teste Plantar.....	31
4.4	Análise Estatística.....	32
5	Resultados.....	33
5.1	Teste do Campo Aberto.....	33
5.2	Natação Forçada.....	39
5.3	Teste Plantar.....	41
5.4	Temperatura Corporal.....	44
5.5	Variáveis Dependentes <i>versus</i> Temperatura e Peso.....	47
6	Discussão.....	48
6.1	Teste de Campo Aberto.....	48
6.2	Teste de Natação Forçada.....	55
6.3	Teste Plantar.....	58
6.4	Temperatura Corporal.....	60
6.5	Variáveis Dependentes <i>versus</i> Temperatura e Peso.....	61
7	Conclusões.....	62
8	Referências Bibliográficas.....	63

1 INTRODUÇÃO

A classe Reptilia é composta de animais de grande importância social, econômica e ecológica, o que faz com que sejam crescentes a sua manutenção em cativeiro e a procura por atendimento clínico e cirúrgico especializado para esses animais. Como consequência, há o aumento pela busca de conhecimento nas diferentes áreas da medicina de répteis, incluindo a farmacologia de analgésicos e sedativos.

Nesse contexto, a manutenção de répteis como modelos experimentais para teste da eficácia e duração do efeito de fármacos é essencial. Contudo, o uso desses animais para experimentação ainda é limitado, principalmente devido às particularidades fisiológicas da classe. Em comparação com os modelos experimentais tradicionais, as respostas fisiológicas e comportamentais que os répteis apresentam a diferentes situações potencialmente estressantes, tanto em vida livre quanto sob condições controladas, são incomuns e variáveis (POLETTA et al., 2013) e devem ser melhor investigadas.

Uma das principais particularidades fisiológicas dos répteis, que podem influenciar suas respostas fisiológicas e comportamentais e dificultar sua manutenção como modelos experimentais, consiste na dependência da temperatura ambiental para realização de termorregulação, que os leva a variações amplas de temperatura corporal ao longo do dia e do ano (GOULART, 2007). As oscilações na temperatura corporal estão intimamente correlacionadas com a taxa metabólica desses animais (BENNET; DAWSON, 1976) e podem, portanto, influenciar na farmacocinética (MOSLEY, 2005) e na farmacodinâmica de medicamentos (CARREGARO et al., 2009) e também no comportamento dos animais (VAN SLUYS, 1992). Por este motivo, a compreensão das variações sofridas pelos animais ao longo do dia e do ano é essencial, tanto em situações experimentais, quanto clínicas.

Além das particularidades fisiológicas dos répteis, outro entrave que dificulta seu estudo consiste na grande variabilidade de espécies agrupadas na classe Reptilia. Diferentes espécies apresentam diferentes características fisiológicas e comportamentais, reduzindo a possibilidade de extrapolação de dados entre elas. Usualmente, as espécies utilizadas como modelos experimentais são selecionadas de acordo com a facilidade de manutenção e reprodução em cativeiro, características que os répteis em geral não possuem (POLETTA et al., 2013). Contudo, fatores essenciais para a escolha das espécies a serem usadas em estudos clínicos consistem em sua

importância ecológica e social e a demanda por atendimento clínico e cirúrgico. No presente estudo, a seleção do uso de teiús (*Salvator merianae*) e iguanas-verdes (*Iguana iguana*) não cumpre somente esses requisitos, como também permite a comparação entre espécies fisiologicamente distintas de lagartos, uma com hábitos terrícolas (CARVALHO; ARAÚJO, 2004), alimentação onívora (KIEFER; SAZIMA, 2002) e dormência sazonal (ANDRADE et al., 2004a), enquanto que a outra apresenta hábitos arborícolas (DIVERS, 1996), alimentação herbívora (IVERSON, 1982) e sem indícios de alterações sazonais marcantes de comportamento, respectivamente.

A análise comportamental de animais mantidos em condições experimentais controladas é uma das principais formas de estudo da resposta desses à administração de fármacos e têm sido amplamente aplicados em roedores experimentais (HÅNELL; MARKLUND, 2014). Sabe-se que mesmo testes já bem estabelecidos para ratos e camundongos podem ter resultados variáveis de acordo com o genótipo dos animais (BROWN; COREY; MOORE, 1999; CHESLER et al., 2002) e as condições experimentais (CHESLER et al., 2002). Por esses motivos, esses testes comportamentais devem ser investigados e se possível padronizados para as diferentes espécies de Reptilia.

Alguns exemplos de testes comportamentais utilizados para avaliar os efeitos de fármacos consistem nos testes de campo aberto e de natação forçada que, entre outras informações, fornecem dados sobre a atividade locomotora dos animais, e o teste plantar, que fornece informações sobre resposta nociceptiva. A ampla quantidade de informações disponíveis em literatura e o sucesso de sua utilização para estudo de roedores, combinadas com a sua validade etológica, ou seja, a similaridade que o teste tem com os comportamentos naturais das espécies selecionadas, fazem com que tenham potencial para aplicação na pesquisa experimental com répteis.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAIS

Avaliar as atividades comportamentais locomotora e nociceptiva em teiús (*Salvator merianae*) e iguanas-verdes (*Iguana iguana*) ao longo do dia e do ano, quando mantidos em condições ambientais controladas.

2.2 ESPECÍFICOS

Estabelecer os padrões de atividade locomotora ao longo do dia e do ano (sazonais) que teiús (*Salvator merianae*) e iguanas-verdes (*Iguana iguana*), mantidos em condições ambientais controladas, apresentam em teste de campo aberto.

Estabelecer os padrões de atividade locomotora ao longo do dia e do ano, que iguanas-verdes mantidas em condições ambientais controladas, apresentam em teste de natação forçada.

Estabelecer os padrões de resposta nociceptiva ao longo do dia e do ano, que as duas espécies apresentam em resposta a um estímulo nociceptivo térmico administrado na superfície plantar do membro por meio de teste plantar.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 OS RÉPTEIS

Inicialmente, os animais que hoje são classificados como répteis já foram agrupados com os anfíbios por diversos zoólogos em um grupo taxonômico único (HUXLEY; MITCHEL, 1911). Apesar de algumas similaridades entre esses animais, como a ocupação de habitats próximos, ausência de mecanismos termogênicos internos (ectotermia) e alta sensibilidade a degradação ambiental (ANDREWS; GIBBONS; JOCHIMSEN, 2008), diferenças marcantes fizeram com que esses grupos fossem classificados em classes diferentes no início do século XIX (HUXLEY; MITCHEL, 1911).

As principais características dos répteis que os diferencia dos anfíbios consistem em alterações morfológicas que os permitem habitar regiões terrestres, como presença de tegumento impermeável, ovo com casca rígida e três membranas adicionais envolvendo o embrião (POUGH; HEISER; JANIS, 2008). Dentre essas características, a presença de três membranas extra-embrionárias adicionais (córion, âmnion e alantoide) não é exclusividade dos répteis, e também ocorre em aves, que juntamente com os répteis forma o clado Sauropsida, e em mamíferos, que juntamente com Sauropsida forma o clado Amniota (BENTON, 2015).

Dentre os amniotas, os répteis consistem em um grupo de vertebrados tetrápodes ectotérmicos, originados evolutivamente de um ancestral comum não exclusivo (BENTON, 2015). É composto por cerca de 7500 espécies (JANES et al., 2010),

divididas em quatro Ordens: Squamata (serpentes e lagartos), com aproximadamente 7200 espécies, Testudines (tartarugas, cágados e jabutis), com aproximadamente 300 espécies, Crocodylia (crocodilos, jacarés, caimans e gaviais), com aproximadamente 23 espécies e Rhynchocephalia (tuataras) com duas espécies (AVERY, 2006; JANES et al., 2010).

Animais desta classe apresentam ampla distribuição geográfica e grande importância ecológica, social e econômica. De acordo com levantamento bibliográfico realizado por Valencia-Aguilar, Cortés-Gómez e Ruiz-Agudelo (2013), os répteis realizam diversos serviços ecossistêmicos, ou seja, serviços que favorecem direta ou indiretamente a população humana. Exemplos de serviços ecossistêmicos diretos consistem em seu uso como fonte de alimento (MARINEROS, 2007), matéria prima (PETERS, 1993) e recursos medicinais (WOLZ-RICHTER; ESSER; HESS, 2013), além de seu uso no comércio como animais de companhia (PRESTRIDGE; FITZGERALD; HIBBITTS, 2011). Serviços ecossistêmicos indiretos consistem em seu papel no controle de pragas e conseqüentemente no controle da transmissão de doenças (MEDEM, 1983), na dispersão de sementes (VALIDO; OLESSEN, 2007) e na ciclagem de nutrientes no ecossistema (LAVELLE et al., 2005).

3.1.1 PARTICULARIDADES FISIOLÓGICAS

Apesar de estarem agrupados filogeneticamente com as aves e os mamíferos no clado Amniota, os répteis apresentam características anatômicas e fisiológicas que os diferencia desses animais.

Uma das principais particularidades dos répteis dentre os amniotas consiste na deficiência de termogênese interna, de tecido adiposo marrom, tremores musculares, e pelos ou penas que possam ser eriçados para isolamento térmico (O'MALLEY, 2005). Como consequência, esses animais dependem da temperatura ambiente para regular sua temperatura corporal, realizando uma forma comportamental de termorregulação, na qual controlam a perda e o ganho de calor do organismo pela busca de microclimas quentes ou frios, pela modificação na coloração da pele, ou pela alteração na postura corporal (GOULART, 2007; O'MALLEY, 2005).

O principal intuito da termorregulação nos répteis é alcançar a temperatura corporal ótima para a realização dos diversos processos metabólicos (MAYER; BAYS, 2009). A otimização dos diferentes processos comportamentais e fisiológicos destes animais depende de uma zona ótima de temperatura corporal (HUEY, 1982). Assim, as

oscilações na temperatura corporal estão intimamente correlacionadas com a taxa metabólica desses animais (BENNET; DAWSON, 1976).

Existem duas principais formas de um réptil buscar elevar sua temperatura corporal: por meio da exposição à luz solar (animais heliotérmicos), ou por condutância, pelo contato com objetos encontrados no ambiente (animais tigmotérmicos) (MAYER; BAYS, 2009). A forma e a frequência da busca ativa por calor ambiental ao longo do dia e do ano é variável entre as espécies de répteis (HEATWOLE; TAYLOR, 1987).

Nas restingas brasileiras, os teídeos *Ameiva ameiva* e *Cnemidophorus* sp apresentam padrão unimodal de atividade, com aumento na atividade metabólica pela manhã, com pico ao meio dia, e decréscimo à tarde (BERGALLO; ROCHA, 1993; DIAS; ROCHA, 2004; HATANO et al., 2001; MENEZES et al., 2000; TEIXEIRA-FILHO et al., 1995; ZALUAR; ROCHA, 2000). Uma exceção são os animais da espécie *Cnemidophorus lacertoides*, que também apresentam padrão unimodal, mas apresentam seu pico de atividade à tarde (ARIANI, 2008).

Além de variações entre espécies de um mesmo gênero, é possível verificar que animais da mesma espécie podem apresentar modificações no padrão de atividade ao longo do ano (HUEY et al., 1977). Espécies de lacertílios que apresentam dois picos de atividade ao longo do dia (padrão bimodal), reduzindo a atividade nas horas mais quentes do dia, podem passar a apresentar um padrão unimodal de atividade no inverno (VAN SLUYS, 1992).

Outro tipo possível de variação sazonal no comportamento termorregulatório dos répteis é a dormência. Esta consiste em uma supressão sazonal da atividade metabólica dos animais frente às diversas condições ambientais adversas, como o frio e a baixa disponibilidade de alimento e água (CHRISTIAN et al., 1999). Essas variações sazonais no metabolismo parecem acompanhar as variações sazonais da temperatura ambiental (ANDRADE et al., 2004a; BOUTILIER et al., 1997; GREGORY, 1982). Contudo, a alteração em temperatura ambiental não é o único fator que contribui para a instauração de um processo de dormência. Sabe-se que as taxas metabólicas de alguns lagartos diminuem progressivamente do verão ao inverno, mesmo quando mantidos em ambiente controlado (MAYHEW, 1965; SOUZA et al., 2004), podendo espécies sabidamente sazonais apresentar ou não comportamento de dormência quando mantidas em cativeiro em altas temperaturas (O'MALLEY, 2005).

Os mecanismos que atuam na supressão metabólica são complexos e ainda não são bem compreendidos (STOREY, 2002), mas sabe-se que alguns fatores envolvidos

no processo envolvem o estágio do ciclo reprodutivo, quantidade de alimento disponível, tamanho corporal, fotoperíodo e ritmos endógenos (O'MALLEY, 2005; MILSOM et al., 2008). Desta maneira, através da percepção de alterações ambientais e em conjunto com a oscilação dos ritmos endógenos, os répteis podem antecipar condições ambientais desfavoráveis, preparando-se para melhor enfrentá-las.

Diversos são os impactos fisiológicos que os répteis sofrem com a oscilação sazonal e diária em sua atividade metabólica. Estudos anteriores já buscaram esclarecer alterações comportamentais que esses animais sofrem, quando oriundos de vida livre (ARIANI, 2008) e também quando mantidos em cativeiro (SMITH; JOHN-ALDER, 1999); alterações em atividade locomotora (FOÀ et al., 1994; UNDERWOOD, 1983), em taxa de consumo de oxigênio (MILSOM et al., 2008; SOUZA et al., 2004; TOLEDO et al., 2008), e em parâmetros sanguíneos e teciduais (ANDRADE et al., 2004b; SOUZA et al., 2004) de animais mantidos em condições ambientais controladas. O estudo dos ritmos diários e sazonais da atividade locomotora é uma forma comum de investigar oscilações rítmicas nos animais. Relatos desta forma de estudo foram feitos em invertebrados (KANCIRUK; HERRNKIND, 1972), peixes (LINNÉR et al., 1990), répteis (FOÀ et al., 1994; INNOCENTI et al., 1994; UNDERWOOD, 1983) e mamíferos (GIROUD et al., 2008; WARNER et al., 2010). Contudo, de maneira geral, esses estudos tem como principal intuito a compreensão dos mecanismos reguladores das oscilações diárias e sazonais e pouco se sabe como essas mudanças fisiológicas pode impactar o uso desses animais na experimentação.

3.1.2 O TEIÚ (*SALVATOR MERIANAE*)

A espécie *Salvator merianae*, popularmente conhecida como teiú, pertence à família Teiidae, e é uma das maiores espécies de lagartos brasileiros, podendo atingir 450 mm de comprimento rostro-cloacal (CRC) e 8 kg de massa corporal (LOPES; ABE, 1999). Tem ampla distribuição geográfica, desde o sul do Amazonas, abrangendo a Bolívia, o Paraguai, Brasil e Argentina (HARVEY et al., 2012), e habita diversos biomas da América do Sul, como a Caatinga, o Cerrado, campos abertos das florestas Amazônica e Atlântica, ambientes costeiros, entre outros (PÉRES JR, 2003).

Apresenta uma dieta generalista, envolvendo a ingestão de sementes, flores e frutos, além da caça de diversos tipos de invertebrados e vertebrados (KIEFER; SAZIMA, 2002). Sazima e D'Angelo (2013) não verificaram diferenças na variedade de

alimentos animais ingeridos por teiús jovens e adultos e verificaram que ovos de aves e répteis e carcaças de vertebrados também fazem parte da alimentação desses animais.

Atualmente, o *S. meriane* encontra-se citado no Apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES), sendo considerada uma espécie sem risco atual de extinção, mas com potencial de se tornar ameaçada se o comércio internacional não for regulamentado. Têm importância econômica por ser utilizada para consumo de carne, comercialização de carne e pele, e também no mercado pet (EMBERT; FITZGERALD; WALDEZ, 2010), além de possuir importância ecológica, devido seu potencial como dispersor de sementes (CASTRO; GALETTI, 2004).

Consiste em uma das espécies de répteis que apresenta marcada sazonalidade. Durante os meses de frio e seca (entre Maio e Setembro na região Sudeste) este animal se recolhe para suas tocas, onde permanece inativo por três a quatro meses, sem ingerir água ou alimento (ANDRADE et al., 2004a). Milsom et al. (2008) verificaram que os teiús apresentam certo grau de depressão metabólica já durante o outono; contudo a fase de dormência só se instala ao final do outono e início do inverno, após o animal tomar a decisão comportamental de se entocar e estabelecer o equilíbrio entre sua temperatura corporal e o seu entorno.

Durante os meses em que não estão em dormência, os teiús apresentam um padrão sazonal de atividade. Logo após o nascer do sol, esses animais deixam seus abrigos e se expõem à luz solar por cerca de 5 a 7 horas para elevação de sua temperatura corporal em 10 a 15°C, a fim de atingir uma temperatura ótima de 36 a 37°C para realização de suas atividades diárias; ao final da tarde, sua temperatura decresce ao estado inicial (ANDRADE et al., 2004b). Além das variações diárias em temperatura, esses animais apresentam incrementos diários em seu metabolismo, que podem manter-se por até 14 dias em alguns animais, mesmo quando esses animais são mantidos no escuro e temperatura constante (MILSOM et al., 2008).

Supressão da dormência foi somente reportada em teiús da espécie *Tupinambis teguxim*, em animais jovens mantidos em cativeiro com temperatura ambiental controlada. Esses animais apresentaram ganho de 142% em peso corporal durante o inverno, fase na qual geralmente apresentam queda de 8 a 9% da massa corporal total em condições normais de oscilação de temperatura (YANOSKY; MERCOLLI, 1993).

3.1.3 A Iguana-verde (*Iguana iguana*)

As iguanas-verdes pertencem à família Iguanidea e estão distribuídas por toda a América Central e norte da América do Sul (DIVERS, 1996), ocupando habitats costeiros ou ribeirinhos (ALVARADO et al., 1995; RAND et al., 1989), do norte do México ao trópico de Capricórnio (ETHERIDGE, 1982). Consiste em uma das maiores espécies de iguanídeos podendo atingir 500 mm de comprimento rostro-cloacal (RIVERO, 1998).

Têm hábitos arborícolas (DIVERS, 1996) e muitas vezes são reportados como herbívoros estritos, que se alimentam de flores, frutas, sementes e folhas (IVERSON, 1982). Entretanto, relatos de ingestão de invertebrados (TOWNSEND et al., 2005), carcaça de vertebrados (ANDERSON; ENGE, 2012) e ovos de aves (ARENDDT, 1986) foram reportados nessa espécie. Govender et al. (2012) analisaram a musculatura da perna e da língua de exemplares de *I. iguana* por meio de espectrometria de massa e verificaram que esses animais são primariamente herbívoros; no entanto, através da análise do conteúdo gástrico, os mesmos autores verificaram que estes animais podem ser onívoros oportunistas, devido à presença de caranguejos, insetos e conchas de caramujos em quatro de 42 animais.

Assim como *S. merianae*, *I. iguana* encontra-se atualmente listada no apêndice II da CITES. Consiste na espécie que domina o mercado de répteis vivos, tendo atingindo 8,7 milhões de animais importados ao redor do mundo entre 1996 e 2012, e representando 46% de todas as importações dessa classe no período (ROBINSON et al., 2015). A principal consequência da exportação destes animais para todo o globo consiste em sua introdução como espécie invasora em diversos ecossistemas, após fugas do cativeiro, ou abandono pelos seus proprietários, devido ao tamanho que estes animais atingem na fase adulta (FALCÓN et al., 2013). Relatos da introdução desta espécie abrangem Porto Rico (RIVERO, 1998), Estados Unidos (TOWNSEND; KRYSKO; ENGE, 2003), Israel (SHACHAM; NEMTZOV, 2008) e Fiji (THOMAS et al., 2011), e as principais consequências relatadas consistem na destruição das plantações locais, dispersão de sementes de plantas invasoras, impacto nas populações locais de outros iguanídeos, entre outras (FALCÓN et al., 2013). Apesar disso, as iguanas-verdes têm grande importância econômica nessas regiões, mobilizando o mercado pet ou servindo como fonte de proteína para venda local ou exportação (FALCÓN et al., 2013).

Em regiões de ocorrência natural, as iguanas-verdes têm grande importância ecológica na manutenção de seu ecossistema. Moura et al. (2015) demonstraram através da análise das excretas de iguanas-verdes de vida livre encontradas em fragmentos de mata Atlântica em João Pessoa (Paraíba, Brasil) que elas apresentam alto potencial de dispersão de sementes, minimizando o impacto da perda de espécies dispersoras em áreas florestais altamente fragmentadas.

Como outros animais pertencentes ao gênero *Iguana*, as iguanas-verdes não desenvolvem dormência sazonal; ou pelo menos não há relatos desse fenômeno nesta espécie. Neste gênero, somente alterações sazonais em seletividade alimentar foram observadas, sendo que iguanas-verdes aumentam a ingestão de flores nas épocas secas como forma de hidratação, e investem em alimentos com altos teores proteicos nas épocas de chuvas (LICHTENBELT, 1993).

3.2 RÉPTEIS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS

Os répteis apresentam mecanismos fisiológicos, adaptativos e comportamentais complexos que explicam o sucesso evolutivo deste diverso grupo taxonômico e, conseqüentemente, motivam seu estudo (POLETTA et al., 2013). Esse fato, combinado com o reconhecimento de sua importância econômica, ecológica e social (VALENCIA-AGUILAR; CORTÉS-GÓMEZ; RUIZ-AGUDELO, 2013), faz com que esses animais sejam cada vez mais mantidos em Instituições de ensino e pesquisa como modelos experimentais para obtenção de informações na área da medicina, biologia e medicina veterinária. Porém, isso ainda é limitado (POLETTA et al., 2013).

Muitos fatores devem ser levados em consideração antes da escolha de uma espécie para uso como animal experimental, como a possibilidade de generalização e transferência da informação para outras espécies de interesse, repetitividade dos resultados, conhecimento existente sobre suas particularidades anatômicas, fisiológicas e patológicas, implicações éticas ou ecológicas de seu uso, sua adaptabilidade às condições experimentais, uniformidade genética, exigências para manutenção e reprodução em cativeiro, e durabilidade dos exemplares (RAND, 2008).

Fatores limitantes no uso de répteis como modelos experimentais consistem na dificuldade na manutenção e reprodução em cativeiro, nos tempos prolongados entre gerações e a impossibilidade de gerar muitos descendentes em um curto período. Todavia, essas características apresentam uma oportunidade aos pesquisadores de criar

um novo paradigma em modelos animais para investigação de tópicos relevantes para a atualidade (POLETTA et al., 2013).

Exemplos da importância do uso dos répteis para pesquisa em medicina consistem na obtenção de substâncias de interesse terapêutico, como substâncias que influenciam a agregação plaquetária (BRINKHOUS et al., 1983; HUANG et al., 1987), com potencial antinociceptivo (SANTOS et al., 2012), e que auxiliam no controle da glicemia (TRIPLITT; CHIQUETTE, 2006). Além disso, o uso de lagartos da espécie *Anolis carolinensis* foi essencial para a melhor compreensão do envolvimento dos núcleos da base em comportamentos sociais agressivos nas diversas espécies de amniotas, e da associação destas estruturas a disfunções humanas como o transtorno obsessivo compulsivo (BAXTER, 2003).

Na área da biologia, esses animais também têm sido investigados como possíveis biomarcadores de contaminação ambiental por metais pesados (SCHNEIDER et al., 2013), radionuclídeos (WOOD et al., 2010) e desreguladores endócrinos (CRAIN; GUILLETTE, 1998), devido sua sensibilidade aos contaminantes e capacidade de bioacumulação e biomagnificação similar ou superior à dos mamíferos e aves (HALL; HENRY, 1992). Os répteis também têm sido úteis no descobrimento das relações filogenéticas entre os amniotas, através de sua avaliação morfológica (NOMURA et al., 2013) e molecular de seu genoma (TOWNSEND et al., 2008), pois a compreensão de seus diversos mecanismos fisiológicos auxilia no entendimento da biologia evolutiva básica e dos mecanismos moleculares de várias espécies (POLETTA et al., 2013).

Além de seu uso na pesquisa para a medicina e a biologia, muitas espécies de répteis têm sido estudadas com o intuito de adquirir informações na área da medicina veterinária, mais especificamente na área de clínica e cirurgia de animais selvagens. Isso está associado principalmente à crescente procura por atendimento clínico e cirúrgico desses animais, combinada ao aumento da consciência entre médicos veterinários de que esses animais podem sentir dor. Uma pesquisa realizada entre médicos veterinários da Associação de Veterinários de Répteis e Anfíbios (Association of Reptile and Amphibian Veterinarians – ARAV) demonstrou que 98,4% (361/367) dos profissionais acreditam que esses animais são capazes de sentir dor (READ, 2004). Contudo, a mesma pesquisa demonstrou que somente 39,5% (145/367) desses profissionais usam analgésicos como parte do tratamento cirúrgico. Possíveis motivos para essa baixa incidência do uso de analgésicos podem ser a falta de informações farmacológicas e a

dificuldade de reconhecer a dor nas diversas espécies de Reptilia (MOSLEY, 2011). Dessa maneira, estudos têm sido realizados com intuito de compreender os mecanismos nociceptivos (TEM DONKELAAR; DE BOER-VAN HUIZEN, 1987) e as possíveis terapias antinociceptivas para esses animais (FLEMING; ROBERTSON, 2006; SLADKY et al., 2007; SLADKY et al., 2008; WAMBUGU, 2010) e esse consiste em um dos focos de estudo do presente grupo de pesquisa.

3.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

A análise comportamental de modelos animais em condições experimentais controladas tem sido realizada desde a década de 30 (ARCHER, 1973). Amplamente empregados para roedores experimentais, os testes comportamentais têm objetivos diversos, que vão desde a compreensão da psicologia de cada espécie (HALL, 1934) até a investigação das alterações comportamentais sofridas pelos animais em diferentes situações experimentais, como a administração de fármacos (LUCKI, 1997), manipulação genética (CRYAN; MOMBÉREAU, 2004) ou simulação de patologias comuns em humanos (CRYAN; MOMBÉREAU, 2004; HUA et al., 2002).

Um grande número de testes comportamentais pode ser encontrado na literatura, cada um apresentando diferentes objetivos. Testes como labirinto em cruz elevado, natação forçada, suspensão pela cauda, vocalização ultrassônica e campo aberto podem ser utilizados como forma de avaliação de transtornos de ansiedade (SILVA; BARROS; PENATTI, 2015), enquanto que testes como Rotarod buscam avaliar alterações em equilíbrio e coordenação motora (HAMM et al., 1994) ou como o teste plantar, teste da retirada da cauda e teste da placa quente, que buscam esclarecer a via nociceptiva (MENENDEZ et al., 2002; SASAKI et al., 2001) e a ação das substâncias antinociceptivas (SLADKY et al., 2007; SRINIVASAN et al., 2003).

A escolha do teste comportamental a ser utilizado deverá considerar diversos fatores, inclusive a espécie e/ou a linhagem a ser estudada. Diferentes linhagens de camundongos apresentam diferentes características comportamentais, quando submetidos a testes de campo aberto ou teste do labirinto em cruz elevado (BROWN; COREY; MOORE, 1999). É essencial, portanto, conhecer o comportamento normal da espécie ou da linhagem quando submetida a cada um dos testes comportamentais.

3.3.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

Inicialmente desenvolvido por Hall (1934) com o intuito de avaliar a emotividade em ratos, o teste do campo aberto (“open field”) consiste em submeter o animal a um ambiente desconhecido e protegido contra fugas com barreiras físicas (paredes) (WALSH; CUMMINS, 1976) e observar suas respostas comportamentais por um período determinado (CHOLERIS et al., 2001).

Apesar de inicialmente preconizado para avaliação da emotividade, o teste é aplicado em diversas situações experimentais. Variações no tamanho, no formato e na iluminação da arena, na familiaridade com o aparato, na duração do teste, no horário do estudo, presença de objetos ou comida, entre outros (PRUT; BELZUNG, 2003), fazem com que diferentes inferências possam ser realizadas a partir desse teste.

Atualmente, esse teste é amplamente utilizado na avaliação do efeito de fármacos sobre o comportamento dos animais, permitindo inferências sobre seus efeitos ansiolítico, ansiogênico, estimulante, sedativo ou indutor de prostração pós-ictal (PRUT; BELZUNG, 2003). O teste também pode ser utilizado para a avaliação da atividade locomotora dos animais, após estabilização dos parâmetros locomotores por exposições repetidas na arena (WALSH; CUMMINS, 1976).

Alguns possíveis comportamentos avaliados em roedores submetidos ao teste de campo aberto consistem no número de ultrapassagens feitas pelo animal pelas subdivisões desenhadas no chão da arena (locomoção horizontal), frequência de levantamento sobre patas traseiras (locomoção vertical), tempo de imobilidade, preferência de local de permanência na arena (centro ou periferia) e comportamento de autolimpeza (“grooming”) (BATISTA et al., 2011). Também podem ser avaliadas a micção e defecação no tempo de permanência na arena e a latência de saída do animal da primeira subdivisão do campo (ARCHER, 1973).

A modificação do comportamento relativo a cada uma das variáveis supracitadas após a administração de fármacos permite uma interpretação nas espécies que têm seu comportamento normal já bem estabelecido nesse teste. A redução do tempo de permanência de ratos e camundongos na região central da arena, sem alterações no tempo total de locomoção horizontal e vertical, são indicativos de efeito ansiolítico dos fármacos. Enquanto isso, o aumento na atividade locomotora desses animais sugere um efeito estimulante e reduções na atividade locomotora e locomoção vertical podem estar associadas com efeitos sedativos ou prostração pós-ictal (PRUT; BELZUNG, 2003). O

teste de campo aberto é um dos testes mais populares em psicologia animal. Apesar de ser popular no estudo de espécies de laboratório, esse teste já foi utilizado em várias outras espécies animais, incluindo invertebrados e peixes (BURGESS, 1979), répteis (CHISZAR et al., 1976; CHISZAR; CARTER, 1975; HERZOG; BURGHARDT, 1986), aves (GALLUP; SUAREZ, 1980) e mamíferos (BURGESS, 1979; BATISTA et al., 2011).

Em répteis, o teste do campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade locomotora (HERZOG; BURGHARDT, 1986) e exploratória (CHISZAR et al., 1976; CHISZAR; CARTER, 1975) de serpentes, com o principal intuito de compreender o comportamento natural das espécies quando expostas a ambientes desconhecidos. Chiszar e Carter (1975) demonstraram que a frequência de dardejamento de língua e travessias da subdivisão da arena de exemplares da espécie *Thamnophis radix* se mantem constante após exposições repetidas à arena por 10 dias. Chiszar et al. (1976) verificaram diferenças significativas nas mesmas variáveis quando compararam três gêneros diferentes de serpentes (*Thamnophis* sp, *Crotalus* sp, *Helerodon* sp), além de verificarem a influência do regime de alimentação sobre seu comportamento exploratório na arena. Herzog e Burghardt (1986), estudando o período de latência da saída do quadrado central e o número de travessias das subdivisões da arena do campo aberto, também verificaram diferenças entre três diferentes espécies do gênero *Thamnophis*.

3.3.2 NATAÇÃO FORÇADA

Inicialmente descrito por Porsolt, Bertin e Jalfre (1977) como um modelo de depressão humana, o teste de natação forçada apresenta grande potencial para avaliação da influência de fármacos sobre a resposta dos animais ao estresse (WEST, 1990). Exemplos de fármacos de interesse veterinário cujos efeitos foram testados em roedores pelo teste de natação forçada consistem na cetamina, quando administrada em doses sub-anestésicas (SAŁAT et al., 2015), e do opioide buprenorfina (FALCON et al., 2015; FALCON et al., 2016).

Apesar de extensivamente utilizado para teste de fármacos, principalmente com ação antidepressiva, o teste de natação forçada também pode ser efetivo para outros estudos. Frye e Walf (2002) utilizaram o teste da natação forçada para avaliar as variações comportamentais comuns às diferentes fases do ciclo estral em ratos. Esses autores puderam detectar diferenças no tempo de imobilização entre ratos com

diferentes níveis do metabólito da progesterona, a alopregnanolona (proestro), comprovando a eficácia do método para alterações comportamentais cíclicas nesses animais.

Apesar de poder ser aplicado tanto em ratos quanto em camundongos, sabe-se que os ratos apresentam um comportamento mais consistente durante o teste de natação forçada, com menor variabilidade individual nos resultados e conseqüentemente exigindo um menor número experimental (CASTAGNÉ et al., 2011). Alguns autores acreditam que isso está correlacionado com a maior adaptação que os ratos têm à água em comparação com os camundongos (CHEN et al., 2015), o que vai ao encontro com o que é sugerido por Hånell e Marklund (2014) sobre a importância da validade etológica de um teste comportamental. Esses autores acreditam que dentre os diversos pontos a serem considerados ao avaliar um teste comportamental, existe a validade etológica, que representa o quanto um teste consegue se assemelhar ao comportamento natural do animal. Dessa maneira, levando em consideração o fato de que as iguanas-verdes são excelentes nadadoras, que voluntariamente utilizam a água para fuga de predadores (SWANSON, 1950), acredita-se que o teste de natação forçada apresente um grande potencial experimental para essa espécie. Apesar disso, esse teste tem pouco histórico de aplicação em répteis relatado em literatura. A eficácia do método para detecção de efeitos sedativos em iguanas-verdes foi verificada em estudo que comparou o tempo de atividade dos animais na piscina após administração de midazolam ou solução salina (SOBREIRA; BRESSAN; CARREGARO, 2016).

3.3.3 TESTE PLANTAR

A forma mais confiável para avaliação da nocicepção em animais consiste na observação comportamental (HOLTON et al., 2001; PRITCHETT et al., 2003). A descrição do comportamento associado à dor aguda, por meio de escalas de dor descritivas, já foi realizado de maneira espécie-específica em algumas espécies de mamíferos, como cães (MURREL et al., 2008), gatos (BRONDANI; LUNA; PADOVANI, 2011) e bovinos (OLIVEIRA et al., 2014).

Em répteis isso é um grande desafio devido à enorme diversidade de espécies na classe Reptilia, que apresentam diferentes adaptações fisiológicas e comportamentais (MOSLEY, 2011). Contudo, uma alternativa promissora para análise nociceptiva em animais dessa classe consiste em sua mensuração com o uso de estímulos algícos (mecânico, térmico, químico) (SLADKY; MANS, 2012).

Apesar de muito bem estabelecido para mamíferos, o uso de estímulo térmico para estudos dos mecanismos nociceptivos em répteis pode ser considerado controverso. Isso se deve principalmente ao grande número de relatos de diversas espécies de répteis mantidas em cativeiro que apresentam queimaduras devido ao contato com fontes de calor em seus terrários (MUSIC; STRUNK, 2016; WHITE et al., 2011). Assim, alguns pesquisadores questionam a responsividade que esses animais têm a estímulos nocivos térmicos. Contudo, diversos estudos com espécies variadas de répteis demonstram sucesso na aplicação da técnica, com respostas aversivas ao estímulo nocivo térmico similares às de mamíferos (BAKER; SLADKY; JOHNSON, 2011; SLADKY et al., 2007; SLADKY; KINNEY; JOHNSON, 2008; SLADKY; KINNEY; JOHNSON, 2009; SLADKY; MANS, 2012).

O uso do estímulo térmico em répteis possui diversas vantagens, como a quantificação imediata da latência, curta duração de aplicação e fácil escape do estímulo pelo animal por meio da retirada do membro estimulado, que levam à prevenção de possíveis danos teciduais. O escape do estímulo realizado pelo animal facilita a análise comportamental de resposta nociceptiva, tornando-a clara e não ambígua (SLADKY; MANS, 2012).

O teste plantar foi inicialmente proposto por Hargreaves et al. (1988) para detecção do limiar nociceptivo térmico em modelo de hiperalgesia cutânea. Consiste em um método automatizado de avaliação do tempo de retirada do membro, após realização de estímulo térmico por calor radiante, e tem como uma das principais vantagens a possibilidade de realização do estudo sem necessidade de contenção física manual dos animais.

Em répteis, esse teste já foi utilizado para a avaliação da eficácia analgésica de opioides. A eficácia analgésica do butorfanol e da morfina foi testada em tartarugas de orelha vermelha (*Trachemys scripta elegans*) (SLADKY et al., 2007) em dragões barbados (*Pogona vitticeps*) e em cobras do milho (*Elaphe guttata*) (SLADKY et al., 2008), proporcionando resultados confiáveis frente aos grupos controle. Além disso, recentemente, o presente grupo de pesquisa buscou esclarecer o efeito antinociceptivo da morfina e butorfanol em teiús (*S. merianae*) e iguanas-verdes e demonstrou que a administração da morfina, mas não do butorfanol pela via intramuscular aumenta o tempo de retirada do membro em teste plantar em teiús (MELO et al., 2016), e que nenhum dos fármacos apresentou eficácia antinociceptiva para as iguanas (BRESSAN; BISETTO; CARREGARO, 2016).

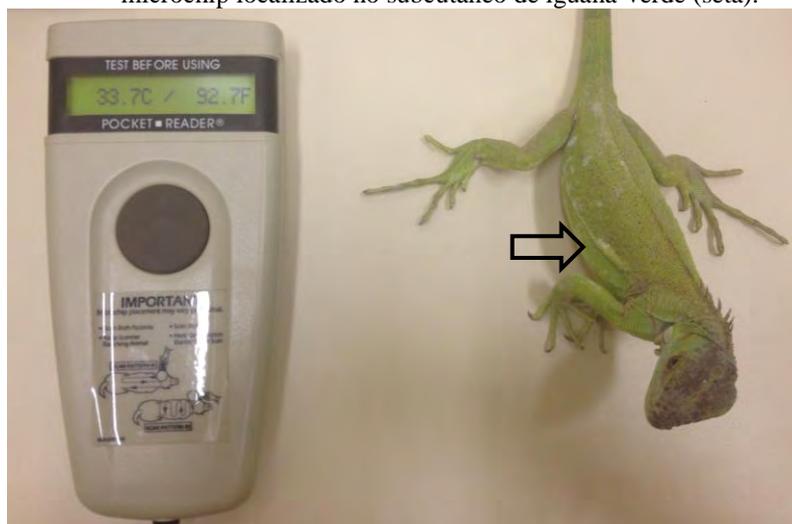
4. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto em questão foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Instituição de origem (144.477.740) e autorização do Ministério do Meio Ambiente por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO número 44767-1), conforme a instrução normativa nº154, de 01 de março de 2007, obtendo-se aprovação nos dois casos.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados seis teiús (*Salvator merianae*) e seis iguanas (*Iguana iguana*) entre 12 (início do experimento) e 29 meses (final do experimento), de sexo indeterminado, mantidas no Núcleo de Anestesia Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA – USP), na cidade de Pirassununga - SP. O peso dos animais foi monitorado mensalmente, durante toda a fase experimental, para verificar a influência do desenvolvimento sobre as variáveis dependentes. Todos os animais foram submetidos à marcação com microchip¹ para identificação e análise da temperatura do subcutâneo do animal durante os diversos momentos do estudo (Figura 1).

Figura 1: Leitor de microchip informando a temperatura do animal e microchip localizado no subcutâneo de iguana-verde (seta).



Fonte: Própria autoria.

¹ Lifechip ® with Biothermal Technology, Destron Fearing, South St. Paul, MN, EUA.

Para promover maior confiabilidade nos resultados obtidos, foram utilizados somente animais considerados saudáveis. Os teiús foram selecionados após exame clínico, e exame laboratorial (hemograma e bioquímica hepática e renal), seguindo os padrões estabelecidos por DIETHELM & STEIN (2006). Devido ao baixo peso e dificuldade de colheita de material biológico, a higidez das iguanas foi determinada somente através de avaliação clínica. A avaliação clínica de ambas as espécies foi realizada de acordo com as recomendações de anamnese e exame físico delineados por Divers (1999), incluindo também um exame clínico minucioso do sistema locomotor, para que os testes de atividade locomotora não fossem prejudicados. Reavaliações clínicas mensais foram realizadas em todos os animais durante todo o estudo e a reavaliação laboratorial foi realizada semestralmente nos teiús.

Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada (24 a 30°C), em caixas de fibra com capacidade de 750 litros com substrato de maravalha, recipientes plásticos (água, alimento, e banho), e pontos de fuga (tocas, esconderijos) para os teiús e troncos secos de árvores para as iguanas (Figura 2). Lâmpadas incandescentes foram posicionadas nos terrários a fim de criar pontos de aquecimento para termorregulação dos animais (*basking*), com temperaturas de 40 a 45°C abaixo das mesmas. Essas foram mantidas acesas entre 6:00h e 18:00h, determinando um fotoperíodo fixo de doze horas, com bloqueio da influência luminosa ambiental através de película espelhada de proteção solar e papel pardo nas janelas. Além disso, uma lâmpada fluorescente que emite espectro ultravioleta (UVA e UVB) para estimular a produção de vitamina D foi destinada ao recinto das iguanas.

A alimentação dos teiús era composta de coração bovino moído, fornecida três vezes por semana, enquanto as iguanas recebiam diariamente verduras escuras como rúcula, agrião e couve. A alimentação de ambas as espécies era suplementada com complexo de cálcio com vitamina D₃², e vitaminas, minerais e aminoácidos específicos para répteis³. Para minimizar o efeito da competição alimentar entre os teiús, os animais que encontravam-se entocados no horário da alimentação, eram removidos e estimulados a se alimentar.

² Repticalcium, Zoo Med Laboratories, Inc, California, EUA.

³ Reptivite, Reptile Vitamins, Zoo Med Laboratories, Inc, California, EUA.

Figura 2: Caixa de fibra para alojamento dos teiús (A) e das iguanas (B).



Fonte: Gentilmente cedidas por William Leal (A) e Thais Bressan (B).

Os animais foram adquiridos com cerca de 2 meses de idade do jacarezário do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Rio Claro - SP e foram mantidos na instituição de origem por 10 meses antes do início do experimento. O manejo supracitado dos animais foi instituído cerca de 6 meses antes do início dos experimentos e mantido durante toda a fase experimental, sendo realizado, com raras exceções, sempre pelos mesmos três indivíduos. O manejo alimentar dos teiús foi mantido mesmo durante a fase de dormência e sinais de redução de atividade dentro da caixa de manutenção e hiporexia foram constantemente monitorados. Quaisquer alterações foram anotadas para futura referência.

4.2 PERFIS DIÁRIO E SAZONAL DE ATIVIDADE

Inicialmente foi determinado o perfil diário das atividades locomotora e nociceptiva apresentada por ambas espécies quando mantidas em ambiente com temperatura e fotoperíodo controlados. Para tal, os animais foram submetidos a mensuração de atividade locomotora em teste de campo aberto, ao teste de natação forçada (somente iguanas), e da resposta nociceptiva a estímulo térmico em termoalquímetro. As mensurações foram realizadas a cada 6 horas por um período de 24 horas (0:00h, 6:00h, 12:00h, 18:00h). A determinação do perfil anual, ou sazonal foi realizada através da repetição mensal desta mensuração pelo período de um ano.

4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os testes comportamentais realizados consistiram no teste do campo aberto (teiús e iguanas-verdes), o teste de natação forçada (iguanas-verdes) e o teste plantar (teiús e iguanas-verdes). A avaliação por meio do teste de campo aberto de ambas as espécies foi iniciado no mês de Janeiro de 2015 e finalizado em Dezembro do mesmo ano. Já os testes de natação forçada e plantar foram iniciados em Junho de 2015 e finalizados em Maio de 2016, fazendo com que a fase experimental do estudo durasse no total 17 meses.

Todas as avaliações foram realizadas em uma sala adjacente à sala de manutenção dos animais, que era climatizada de acordo com as condições de manutenção dos animais, com exceção das lâmpadas que eram mantidas acesas em todos os horários de avaliação. Durante toda a fase de coleta de dados, buscou-se manter sempre a mesma sequência de realização dos testes comportamentais. Inicialmente, era realizado o teste de campo aberto dos teiús (duração de 2 dias, com avaliação de 3 animais por dia), seguido do teste de campo aberto das iguanas (duração de 2 dias). Após finalizado o teste de campo aberto, era realizado o teste de natação das iguanas-verdes (duração de 1 dia, com avaliação de 6 animais por dia), seguido do teste plantar dos teiús (duração de 1 dia) e por último o teste plantar das iguanas-verdes (duração de 1 dia). Havia uma pausa de no mínimo 24 horas entre o uso de cada exemplar em cada um dos testes. A avaliação dos horários ao longo do dia foi feita de forma sequencial, contudo o horário inicial de cada mês foi determinado de forma aleatória. A sequência de uso dos animais também foi selecionada de forma aleatória. Antes da realização de

cada um dos testes a temperatura do subcutâneo de cada animal era mensurada, para posterior avaliação de sua correlação com as variáveis dependentes.

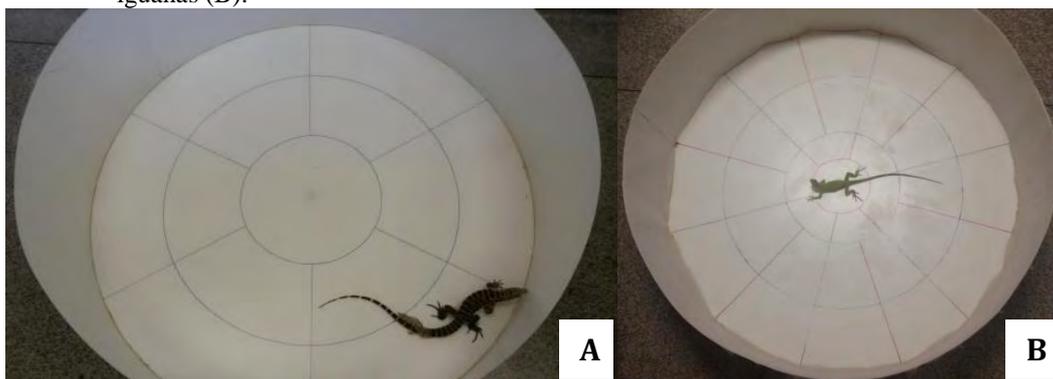
4.3.1 TESTE DE CAMPO ABERTO

Para a realização do teste foi utilizada uma arena circular de 1,2m de diâmetro, feita de compensado naval e revestida com 40 cm de altura com fórmica branca para evitar fugas. Após alguns meses de avaliação, alguns exemplares da espécie *S. merianae* aprenderam a escapar da arena e uma adaptação na mesma com paredes de 120 cm foi realizada. A arena foi dividida em três partes por círculos concêntricos que por sua vez foram divididos em partes iguais por seis retas para avaliação da atividade locomotora dos teiús (Figura 3A), e em quatro partes concêntricas subdivididas por doze retas para a avaliação da atividade das iguanas (Figura 3B). O formato circular da arena foi desenhado de acordo com MATAQUEIRO et al. (2004) e foi selecionado de forma a minimizar as chances dos animais se abrigarem nos cantos, maximizando a deambulação. Por sua vez, as dimensões da arena e de suas subdivisões foram ajustadas de forma a acomodar os exemplares das duas espécies selecionadas, mesmo após o crescimento esperado durante o decorrer do ano de avaliação.

Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a uma fase de adaptação à arena, sendo colocados nesta por 30 minutos, durante dez dias consecutivos. Para a análise da atividade locomotora, o animal foi colocado no centro da arena do teste de campo aberto e sua atividade foi avaliada por 15 minutos. A limpeza da arena do campo aberto era realizada com um pano com álcool ao final de cada dia e quando necessário entre animais em um mesmo dia, quando um exemplar urinasse e/ou defecasse na mesma. Todas as avaliações foram registradas por uma câmera de vídeo instalada em um tripé de modo a evitar que a presença de um avaliador interferisse na atividade locomotora do animal e a análise dos vídeos foi realizada por avaliador que desconhecia o horário do dia e o mês do ano.

Os parâmetros avaliados foram: período de latência de saída do círculo central da arena (LSCC) e o número de ultrapassagens que o animal fez nas subdivisões da arena com os quatro membros (atividade locomotora espontânea; ALE). Animais que não se moveram durante todo o período de análise receberam 900 segundos de LSCC e 0 pontos de AL.

Figura 3: Arena do teste de campo aberto adaptada para avaliação locomotora de teiús (A) e de iguanas (B).

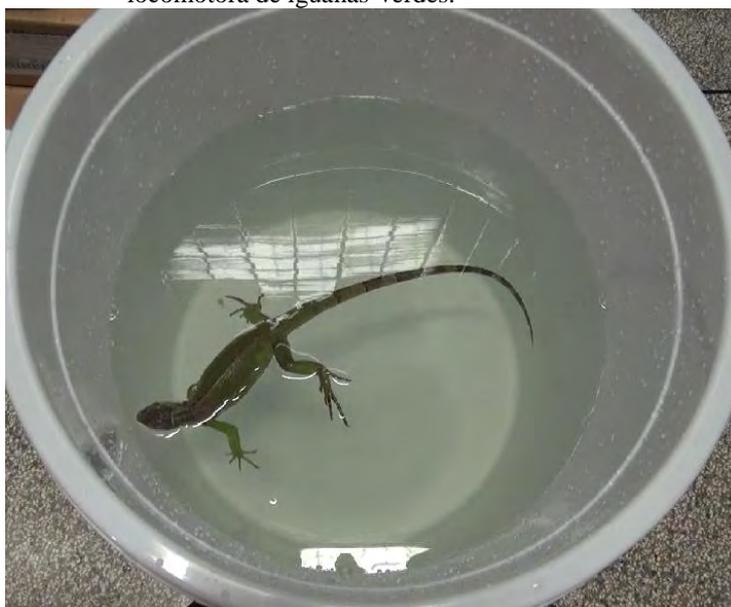


Fonte: Gentilmente cedida por William Leal (A). Própria autoria (B).

4.3.2 TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA

Para o teste de natação forçada, foi utilizada uma piscina em forma de cilindro com 41 cm de diâmetro por 46 cm de altura (Figura 4), contendo aproximadamente 40 L de água. A piscina foi preenchida de forma a não permitir que os animais apoiassem os membros em seu fundo, sempre 6 horas antes do início do experimento para permitir com que a água entrasse em equilíbrio com a temperatura do ambiente climatizado (24 a 30°C). Durante a realização dos ensaios de natação, a temperatura da água era mensurada para posterior análise. Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a uma fase de adaptação à piscina, sendo colocados nesta por 2 minutos, durante dez dias consecutivos.

Figura 4: Piscina utilizada para mensuração da atividade locomotora de iguanas-verdes.



Fonte: Própria autoria.

Para a análise da atividade locomotora, o animal foi colocado no centro da piscina e sua atividade foi filmada por 2 minutos. A água da piscina só era trocada se necessário, devido à excreção, ao final da avaliação em cada horário, para permitir o equilíbrio da água com a temperatura ambiente para a próxima mensuração. Em caso de defecação entre os animais em um mesmo horário, as fezes eram removidas da água com o auxílio de uma peneira. Da mesma maneira que no teste do campo aberto, o avaliador não tinha conhecimento do horário do dia e do mês do ano. Os parâmetros avaliados consistiram no tempo de atividade (TA) versus o tempo de imobilidade (TI), ou seja, momentos nos quais os animais apresentavam nado ou tentativa de fuga versus momentos onde só faziam movimentos suficientes para manter a cabeça fora da água.

4.3.3 TESTE PLANTAR

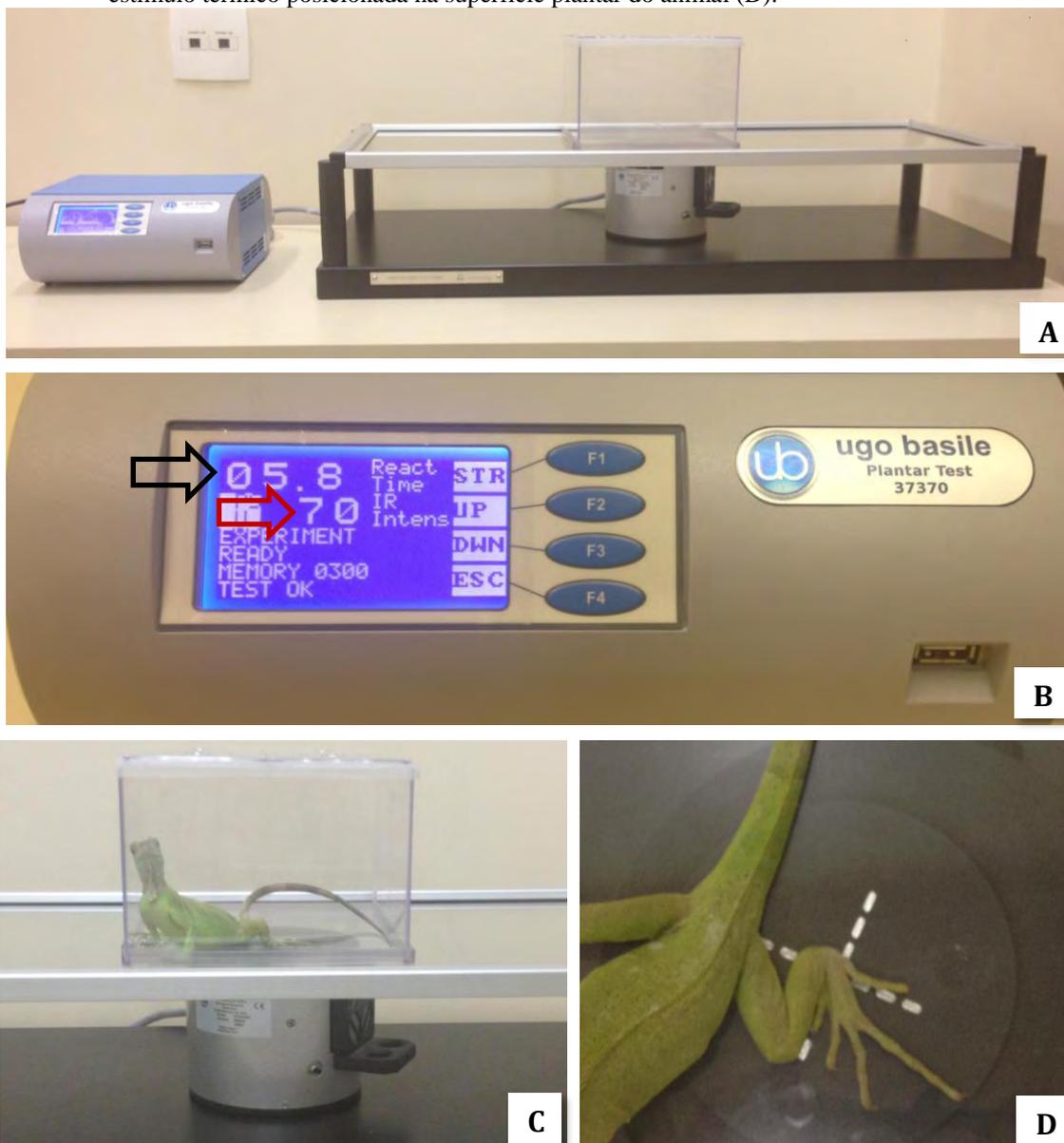
Para realização do teste de resposta nociceptiva pelo teste plantar, foi utilizado o aparelho de Hargreaves⁴ (Figura 5A), responsável por realizar um estímulo térmico na superfície plantar do membro do animal e pela cronometragem automática do tempo de retirada deste membro em resposta ao estímulo gerado (Figura 5B).

Para tal, os animais foram posicionados no aparelho, dentro de um recipiente de acrílico sem fundo e de tamanho ajustável, sobre uma plataforma de acrílico, ambos transparentes onde permaneceram por cinco minutos para adaptação (Figura 5C). Em seguida, a lâmpada foi posicionada sob a plataforma, de forma a gerar o estímulo térmico radiante na superfície plantar do animal (Figura 5D). Este teve intensidade de 70, correspondente a 245 ± 7 mW/cm² de acordo com as especificações do fabricante, e duração de no máximo 25 segundos, com o intuito de evitar danos teciduais, conforme determinado em projeto piloto. Dessa maneira, foi determinado o período de latência do reflexo de retirada do membro pélvico (LRM).

Para minimizar a influência das outras iguanas em caixas adjacentes, as paredes do recipiente de acrílico foram forradas com material opaco. Dessa maneira os animais também não conseguiam visualizar o avaliador durante o momento de aplicação do estímulo nociceptivo.

⁴ Modelo 37370, Ugo Basile Co, Varese, Itália.

Figura 5: Avaliação da nocicepção por teste plantar. Aparelho de Hargreaves (A), display demonstrando mensuração automática do tempo de retirada do membro (seta preta) e intensidade do estímulo (seta vermelha) (B), iguana-verde em fase de adaptação na caixa de acrílico (C) e lâmpada para estímulo térmico posicionada na superfície plantar do animal (D).



Fonte: Própria autoria.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do uso do *software* GraphPad Prism 6. Inicialmente, a normalidade de todos os dados foi testada com o teste D'Agostino-Pearson. Dados com distribuição normal foram expressos nos resultados na forma de média \pm desvio padrão, enquanto que dados sem distribuição normal foram expressos na forma de mediana [intervalo interquartil].

Duas formas de análise estatística foram realizadas. Inicialmente buscou detectar-se diferenças significativas entre os horários do dia dentro de um mesmo mês

(avaliação do perfil diário) e também diferenças significativas de um mesmo horário, entre os diferentes meses do ano (avaliação do perfil sazonal). Para tal, dados com distribuição normal foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) de duas vias para amostras repetidas, seguido de teste de Tukey, tanto para as comparações de médias obtidas no perfil diário como no sazonal. Para os dados sem distribuição normal, as diferenças significativas foram detectadas através do uso do teste de Friedman, seguido do teste de Dunn, também para comparações as diárias e sazonais.

Além da avaliação das variáveis de acordo com seus perfis diários e sazonais, buscou-se também testar a correlação entre todas as variáveis dependentes avaliadas *versus* a temperatura corporal e *versus* o peso dos animais, independente do horário do dia e do mês do ano. Dessa maneira buscou-se avaliar a influência que a temperatura corporal e o crescimento dos animais tiveram sobre sua atividade locomotora e resposta nociceptiva. Para variáveis com distribuição normal foi utilizado o teste de correlação de Pearson bicaudal e para variáveis sem distribuição normal foi utilizado o teste de Spearman bicaudal.

Em todos os testes estatísticos, as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Os resultados referentes aos testes de campo aberto, de natação forçada e plantar encontram-se descritos a seguir. Ressalta-se que quando mantidos sob as condições ambientais e de manejo anteriormente descritas, os animais da espécie *Salvator merianae* não apresentaram supressão metabólica completa como descrito em literatura com abolição da ingestão de alimento e de água, apesar desses animais terem aumentado o tempo nos quais se mantiveram entocados e reduziram consideravelmente a quantidade de alimento ingerido, principalmente no mês de Julho de 2015.

5.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

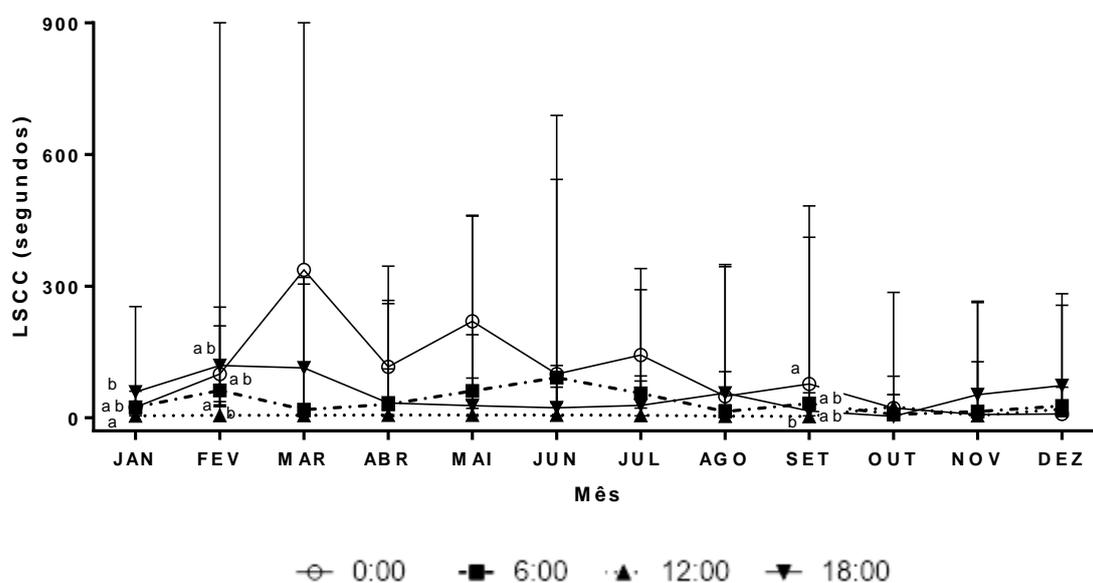
O teste do campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade locomotora dos teiús e das iguanas-verdes. Os parâmetros avaliados consistiram na latência de saída do círculo central (LSCC) e o número de travessias pelas subdivisões da arena (ALE). Os resultados obtidos em teiús para a LSCC encontram-se representados na Tabela 1 e na Figura 6.

Tabela 1: Valores do período de latência de saída do círculo central (LSCC) em segundos, em teste de campo aberto com teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidos em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro e Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma linha, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma coluna.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	24 [12; 33] ^{ab}	24 [10; 28] ^{ab}	5 [3; 20] ^a	59 [24; 187] ^b
Fevereiro	100 [44; 135] ^{ab}	63 [38; 696] ^a	6 [3; 19] ^b	120 [41; 217] ^{ab}
Março	337 [5; 841]	19 [5; 87]	6 [3; 10]	114 [4; 288]
Abril	116 [57; 152]	31 [7; 56]	7 [1; 150]	34 [3; 89]
Mai	220 [56; 412]	61 [51; 253]	7 [3; 94]	28 [4; 69]
Junho	100 [6; 391]	92 [55; 488]	7 [3; 39]	23 [5; 49]
Julho	143 [78; 224]	56 [30; 86]	6 [4; 10]	29 [6; 71]
Agosto	49 [40; 70]	15 [9; 124]	4 [3; 22]	57 [18; 276]
Setembro	77 [43; 334] ^a	33 [6; 201] ^{ab}	4 [2; 12] ^b	16 [3; 49] ^{ab}
Outubro	22 [7; 38]	8 [3; 63]	26 [5; 43]	3 [3; 4]
Novembro	8 [6; 9]	15 [4; 44]	5 [3; 39]	53 [14; 140]
Dezembro	9 [5; 35]	27 [3; 64]	20 [8; 30]	73 [5; 201]

Valores representados na forma de mediana e intervalo interquartil.

Figura 6: Mediana e intervalo interquartil do período de latência de saída do círculo central (LSSC) em segundos obtido em teste de campo aberto com teiús (*Salvator merianae*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidos em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro a Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



Diferenças significativas não foram detectadas na análise do ciclo sazonal, ou seja, na comparação de cada um dos horários entre os meses. Diferenças só foram detectadas na comparação entre os horários dentro dos meses de Janeiro, Fevereiro e Setembro. Em Janeiro, maiores latências foram detectadas às 18:00h em comparação com o horário 12:00h, enquanto que em Fevereiro maiores latências foram detectadas às 6:00h em comparação com 18:00h, e em Setembro às 0:00h em comparação com 12:00h. De maneira geral, todos os horários e meses avaliados apresentaram uma variação individual muito grande nessa variável, culminando em intervalos interquartis muito amplos.

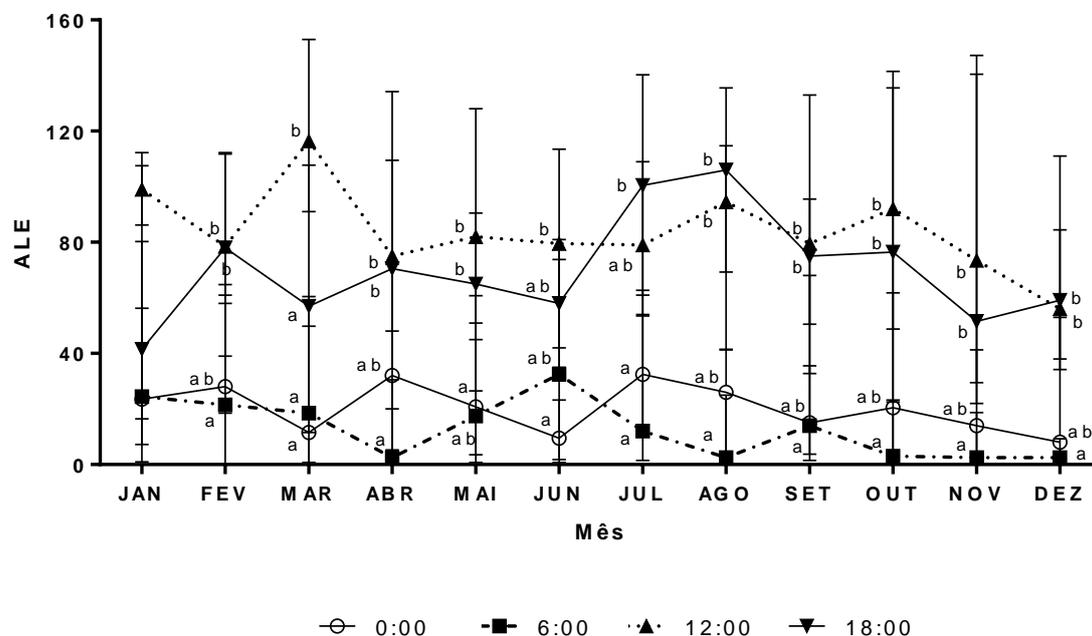
Da mesma maneira, os resultados referentes a atividade locomotora espontânea encontram-se representados na Tabela 2 e na Figura 7.

Tabela 2: Número de travessias nas subdivisões em arena do campo aberto (atividade locomotora espontânea; ALE) com teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidos em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro e Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma linha, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma coluna.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	24 [9; 50]	25 [1; 53]	99 [89; 108]	42 [22; 72]
Fevereiro	28 [24; 48] ^{ab}	22 [4; 55] ^a	79 [65; 89] ^b	78 [56; 89] ^b
Março	12 [1; 32] ^a	19 [2; 42] ^a	117 [107; 144] ^b	57 [20; 89] ^a
Abril	32 [10; 52] ^{ab}	3 [1; 14] ^a	75 [32; 95] ^b	71 [58; 87] ^b
Mai	21 [8; 39] ^a	18 [2; 50] ^{ab}	82 [39; 111] ^b	65 [52; 76] ^b
Junho	10 [2; 19] ^a	33 [2; 72] ^{ab}	80 [49; 102] ^b	58 [46; 67] ^{ab}
Julho	33 [16; 50] ^a	12 [4; 45] ^a	79 [63; 99] ^{ab}	101 [73; 117] ^b
Agosto	26 [9; 35] ^{ab}	3 [1; 5] ^a	95 [80; 118] ^b	106 [60; 110] ^b
Setembro	15 [5; 55] ^{ab}	14 [2; 26] ^a	80 [56; 95] ^b	75 [37; 123] ^b
Outubro	21 [6; 49] ^{ab}	3 [2; 12] ^a	92 [65; 129] ^b	77 [25; 128] ^b
Novembro	14 [4; 32] ^{ab}	3 [1; 13] ^a	74 [40; 134] ^b	52 [31; 117] ^b
Dezembro	8 [3; 39] ^{ab}	3 [1; 5] ^a	56 [42; 69] ^b	59 [46; 90] ^b

Valores representados na forma de mediana e intervalo interquartil.

Figura 7: Mediana e intervalo interquartil do número de travessias nas subdivisões em arena do campo aberto (atividade locomotora espontânea; ALE) com teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidos em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro e Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



Assim como na análise da LSCC, nenhuma diferença estatística foi detectada na pontuação da ALE nos diferentes horários ao longo do ano. Em contrapartida, diferenças significativas dentro de cada mês, entre os diferentes horários, foram detectadas de Fevereiro a Dezembro. O perfil diário de atividade variou de forma diferente nos diferentes meses do ano. Em Janeiro a ALE foi constante ao longo do dia, enquanto que em Fevereiro, Abril e de Agosto a Dezembro os valores de ALE as 6:00h foram inferiores aos obtidos as 12:00h e 18:00h. Em Março a ALE foi maior as 12:00h em comparação com 0:00h e 6:00h, e em Maio a ALE foi menor as 0:00h em comparação com 12:00h e 18:00h. Em Junho a ALE foi menor às 0:00h em comparação com 12:00h, e em Julho a ALE foi maior as 18:00h em comparação com 0:00h e 6:00h.

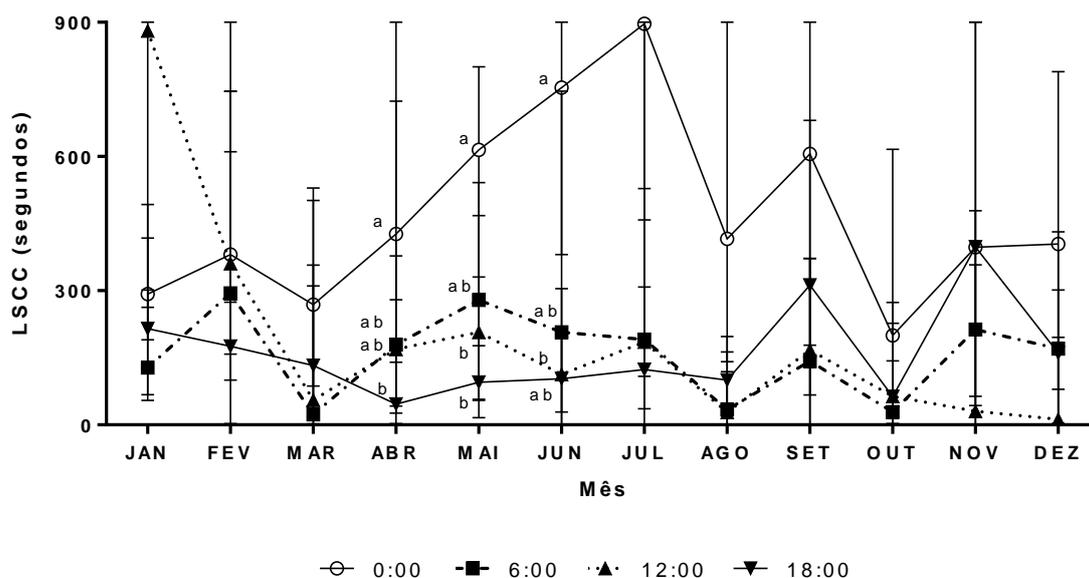
De maneira semelhante, a LSCC das iguanas-verdes também foi realizada e os resultados encontram-se descritos na Tabela 3 e na Figura 8.

Tabela 3: Período de latência de saída do círculo central (LSSC) em segundos obtido em teste de campo aberto com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro a Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	293 [222; 343]	128 [91; 255]	881 [459; 900]	215 [94; 350]
Fevereiro	381 [328; 481]	295 [159; 629]	361 [173; 778]	176 [33; 577]
Março	269 [52; 426]	24 [2; 316]	56 [14; 101]	133 [118; 167]
Abril	427 [308; 616] ^a	180 [77; 238] ^{ab}	169 [50; 736] ^{ab}	46 [12; 105] ^b
Maio	615 [409; 758] ^a	279 [76; 519] ^{ab}	207 [72; 417] ^b	95 [30; 138] ^b
Junho	754 [511; 876] ^a	207 [32; 595] ^{ab}	113 [53; 133] ^b	103 [18; 244] ^{ab}
Julho	897 [637; 900]	191 [17; 756]	169 [144; 269]	124 [54; 396]
Agosto	416 [193; 831]	34 [1; 128]	28 [7; 80]	100 [64; 139]
Setembro	606 [256; 900]	143 [10; 308]	168 [22; 304]	313 [101; 577]
Outubro	200 [32; 461]	29 [3; 81]	64 [2; 170]	63 [11; 123]
Novembro	397 [102; 836]	213 [52; 309]	31 [1; 148]	398 [123; 794]
Dezembro	405 [66; 726]	171 [30; 265]	13 [3; 35]	161 [97; 242]

Valores representados na forma de mediana e intervalo interquartil.

Figura 8: Mediana e intervalo interquartil do período de latência de saída do círculo central (LSSC) em segundos obtido em teste de campo aberto com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro a Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



Foi possível verificar que não houve diferença significativa entre os valores de LSCC nos diferentes horários ao longo do ano. Contudo, diferença significativa foi detectada entre os diferentes horários (ciclo diário) dentro dos meses de Abril, Maio e Junho. No caso dos três meses, a LSCC foi maior as 0:00h em comparação com 18:00h (Abril), 12:00h e 18:00h (Maio) e 12:00h (Junho). Assim como no caso dos teiús, uma grande variabilidade nos valores obtidos levou a valores abrangentes de intervalos interquartis.

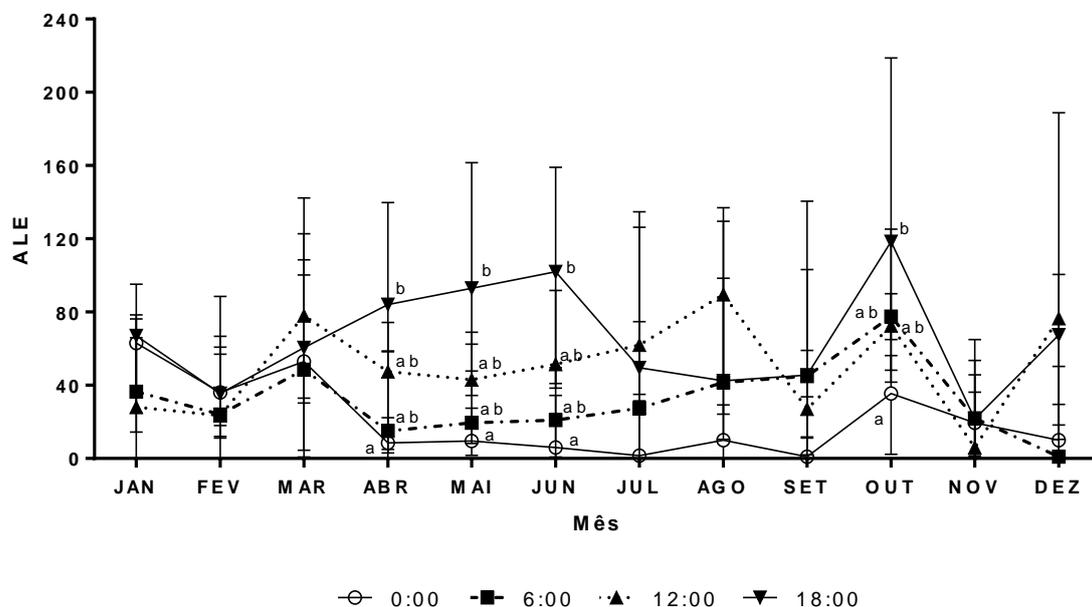
Os resultados referentes à ALE das iguanas-verdes encontram-se representados na Tabela 4 e na Figura 9.

Tabela 4: Número de travessias nas subdivisões em arena do campo aberto (atividade locomotora espontânea; ALE) com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro e Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma linha, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística em uma coluna.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	63 [38; 75]	37 [22; 72]	28 [0; 58]	67 [44; 72]
Fevereiro	36 [20; 59]	24 [16; 45]	24 [5; 43]	36 [26; 72]
Março	53 [40;87]	49 [11; 67]	78 [21; 127]	61 [46; 88]
Abril	9 [4; 18] ^a	15 [7; 38] ^{ab}	48 [11; 54] ^{ab}	84 [69; 93] ^b
Maio	10 [2; 20] ^a	19 [11; 42] ^{ab}	43 [39; 55] ^{ab}	93 [61; 132] ^b
Junho	6 [1; 18] ^a	21 [4; 38] ^{ab}	52 [40; 73] ^{ab}	102 [55; 138] ^b
Julho	2 [0; 18]	28 [0; 66]	62 [39; 111]	50 [32; 89]
Agosto	10 [1; 23]	42 [14; 81]	90 [57; 124]	43 [28; 96]
Setembro	1 [0; 7]	45 [21; 69]	27 [6; 40]	46 [22; 86]
Outubro	36 [8; 53] ^a	78 [67; 78] ^{ab}	73 [55; 103] ^{ab}	119 [81; 192] ^b
Novembro	20 [1; 47]	22 [5; 40]	6 [2; 26]	22 [0; 58]
Dezembro	10 [1; 20]	1 [1; 22]	77 [37; 90]	68 [23; 60]

Valores representados na forma de mediana e intervalo interquartil.

Figura 9: Mediana e intervalo interquartil do número de travessias nas subdivisões em arena do campo aberto (atividade locomotora espontânea; ALE) com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro e Dezembro de 2015). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



Análise estatística da ALE das iguanas-verdes demonstrou que esses animais apresentam valores constantes de atividade locomotora, independente do horário e ao longo do ano. Assim como nos teiús, diferença significativa só foi detectada na análise diária dos animais, com valores de ALE inferiores às 0:00h em comparação com às 18:00h nos meses de Abril, Maio, Junho e Outubro.

5.2 NATAÇÃO FORÇADA

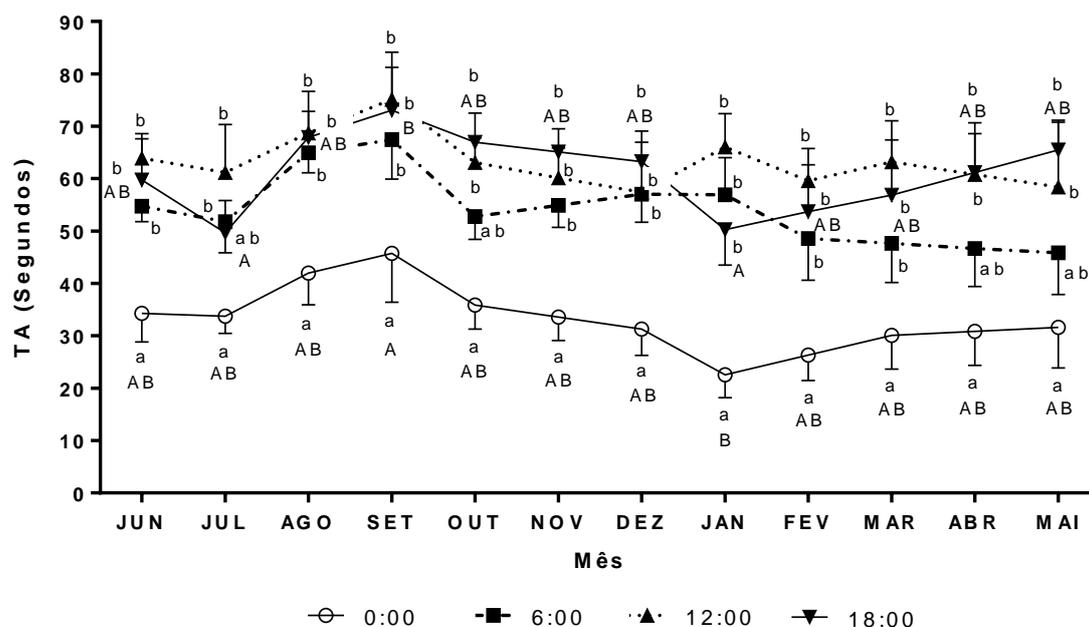
O tempo de atividade (TA) de iguanas-verdes submetidas ao teste de natação forçada ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h) nos meses de Junho de 2015 a Maio de 2016 podem ser verificados na Tabela 5 e na Figura 10.

Tabela 5: Tempo de atividade (TA) em segundos obtido em teste de natação forçada com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Junho	34,3 ± 13,4 ^{a, AB}	54,76 ± 7,3 ^b	63,9 ± 11,4 ^b	59,8 ± 19,3 ^{b, AB}
Julho	33,8 ± 8,0 ^{a, AB}	51,8 ± 14,5 ^b	61,2 ± 22,5 ^b	49,7 ± 15,2 ^{ab, A}
Agosto	42,0 ± 14,8 ^{a, AB}	64,95 ± 9,39 ^b	68,7 ± 19,5 ^b	67,9 ± 12,1 ^{b, AB}
Setembro	45,8 ± 23,0 ^{a, A}	67,5 ± 18,5 ^b	75,2 ± 22,0 ^b	73,1 ± 20,1 ^{b, B}
Outubro	35,8 ± 11,1 ^{a, AB}	48,6 ± 3,6 ^{ab}	63,1 ± 11,6 ^b	66,9 ± 13,6 ^{b, AB}
Novembro	33,6 ± 11,2 ^{a, AB}	54,9 ± 10,4 ^b	60,1 ± 14,0 ^b	65,1 ± 10,8 ^{b, AB}
Dezembro	31,3 ± 12,3 ^{a, AB}	57,1 ± 13,1 ^b	57,4 ± 26,1 ^b	63,27 ± 14,3 ^{b, AB}
Janeiro	22,6 ± 10,8 ^{a, B}	56,9 ± 17,4 ^b	66,0 ± 15,6 ^b	50,2 ± 16,6 ^{b, A}
Fevereiro	26,3 ± 12,0 ^{a, AB}	48,6 ± 21,8 ^b	59,6 ± 16,9 ^b	53,7 ± 24,4 ^{b, AB}
Março	33,1 ± 15,8 ^{a, AB}	47,6 ± 20,4 ^b	63,2 ± 19,2 ^b	56,9 ± 25,9 ^{b, AB}
Abril	30,8 ± 15,9 ^{a, AB}	46,7 ± 19,8 ^{ab}	66,8 ± 24,3 ^b	61,2 ± 18,2 ^{b, AB}
Maio	34,17 ± 20,1 ^{a, AB}	45,8 ± 19,5 ^{ab}	58,4 ± 30,4 ^b	65,5 ± 13,9 ^{b, AB}

Valores expressos em média ± desvio padrão.

Figura 10: Média ± erro padrão do tempo de atividade (TA) em segundos no teste de natação forçada de iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidas em condições ambientais controladas, realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



Diferenças estatísticas nos valores de PA foram detectadas tanto na análise diária, quanto na análise sazonal. Na análise sazonal, os valores de PA foram estatisticamente mais elevados às 0:00h de Setembro em comparação com o mesmo horário de Janeiro. A mesma alteração foi detectada às 18:00h de Setembro em comparação com o mesmo horário de Julho e Janeiro. Durante a análise diária, diferenças significativas foram detectadas entre os horários de todos os meses do ano. Três diferentes padrões de variações na PA foram detectados. Nos meses de Junho, Agosto, Setembro, Novembro e de Dezembro a Março menores valores de PA foram detectados às 0:00h em comparação com 6:00h, 12:00h e 18:00h. Em Julho a mesma diferença foi detectada somente em comparação com 6:00h e 12:00h, enquanto que em Outubro, Abril e Maio foi detectada em comparação com 12:00h e 18:00h.

5.3 TESTE PLANTAR

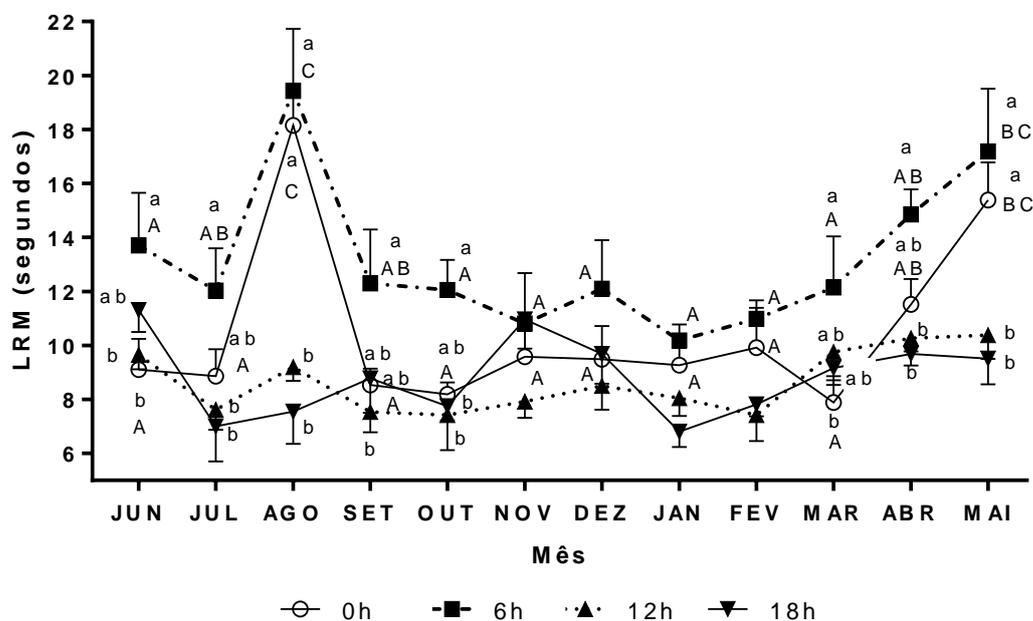
Os dados obtidos a partir da avaliação da atividade nociceptiva dos teiús ao longo do dia e do ano encontram-se descritos na Tabela 6 e na Figura 11.

Tabela 6: Períodos de latência do reflexo de retirada do membro pélvico (LRM) em resposta a estímulo térmico aplicado na superfície plantar em segundos, obtidos em teste plantar com teiús (*Salvator merianae*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidos em condições ambientais controladas. Teste realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Junho	9,1 ± 2,8 ^{b, A}	13,7 ± 4,8 ^{a, A}	9,7 ± 1,3 ^a	11,3 ± 2,0 ^{ab}
Julho	8,9 ± 2,4 ^{ab, A}	12,0 ± 3,8 ^{a, AB}	7,6 ± 1,8 ^b	7,0 ± 3,2 ^b
Agosto	18,1 ± 3,7 ^{a, C}	19,4 ± 5,6 ^{a, C}	9,2 ± 1,3 ^b	7,6 ± 2,9 ^b
Setembro	8,5 ± 1,5 ^{ab, A}	12,3 ± 4,9 ^{a, AB}	7,5 ± 1,8 ^b	8,8 ± 3,1 ^{ab}
Outubro	8,2 ± 1,1 ^{ab, A}	12,0 ± 2,7 ^{a, A}	7,4 ± 3,1 ^b	7,7 ± 1,3 ^b
Novembro	9,6 ± 2,4 ^A	10,8 ± 4,6 ^A	7,9 ± 1,4	10,9 ± 2,7
Dezembro	9,5 ± 3,0 ^A	12,1 ± 4,4 ^A	8,5 ± 2,1	9,7 ± 2,7
Janeiro	9,2 ± 2,1 ^A	10,2 ± 1,5 ^A	8,0 ± 1,7	6,4 ± 1,2
Fevereiro	9,9 ± 3,6 ^A	11,0 ± 1,7 ^A	7,4 ± 2,4	7,8 ± 1,1
Março	7,9 ± 2,0 ^{b, A}	12,1 ± 4,6 ^{a, A}	9,7 ± 3,0 ^{ab}	8,2 ± 2,3 ^{ab}
Abril	11,5 ± 2,3 ^{ab, AB}	14,8 ± 2,3 ^{a, AB}	10,2 ± 1,2 ^b	8,9 ± 1,9 ^b
Maio	15,4 ± 3,4 ^{a, BC}	17,2 ± 5,7 ^{a, BC}	10,4 ± 2,2 ^b	9,5 ± 2,3 ^b

Valores expressos em média ± desvio padrão.

Figura 11: Média \pm erro padrão dos períodos de latência do reflexo de retirada do membro pélvico (LRM) em resposta a estímulo térmico aplicado na superfície plantar em segundos, obtidos em teste plantar com teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidos em condições ambientais controladas. Teste realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.



A análise estatística dos valores de LRM demonstraram diferenças significativas tanto na análise sazonal quanto na análise diária. Na análise do padrão sazonal da LRM no horário 0:00h, observou-se valores mais elevados no mês de Agosto em comparação com todos os outros meses do ano exceto Maio, e em Maio em comparação com todos os outros meses do ano, exceto Agosto e Abril. De maneira semelhante, maiores valores de LRM foram detectados às 6:00h de Agosto em comparação com todos os outros meses exceto Abril e Maio, e no mês de Maio em comparação com Julho e Outubro a Março. Nenhuma diferença foi detectada ao longo do ano nos horários 12:00h e 18:00h.

Com relação à análise diária, foram detectados cinco padrões de oscilação da resposta nociceptiva nos diferentes meses do ano. Valores de LRM foram maiores às 6:00h em comparação com 0:00 e 12:00 em Junho e maiores que 12:00h e 18:00h em Julho, Outubro e Abril. Nos meses de Agosto e Maio, a LRM foi maior às 0:00h e 6:00h quando comparadas às 12:00h e 18:00h, enquanto que nos meses de Setembro e Março a LRM foi maior às 6:00h, comparada às 12:00h e 0:00h, respectivamente. No restante dos meses, não foram detectadas diferenças estatísticas entre os horários testados.

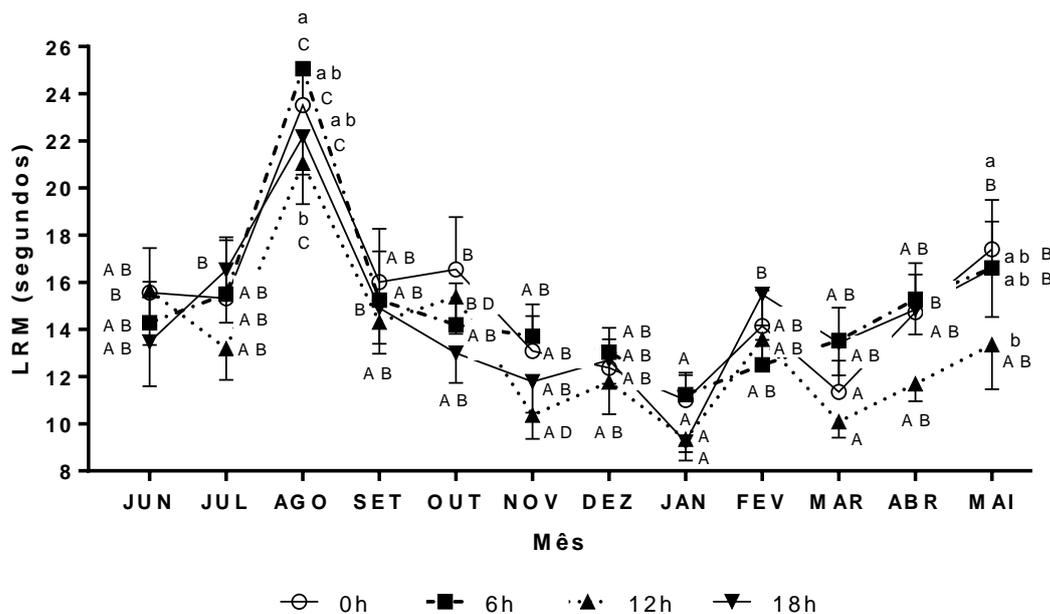
Os valores de LRM mensurados para as iguanas-verdes encontram-se representados na Tabela 7 e na Figura 12.

Tabela 7: Latência do reflexo de retirada do membro pélvico (LRM) em resposta a estímulo térmico aplicado na superfície plantar (segundos), em teste plantar com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens de sexo indefinido (n=6), mantidas em condições ambientais controladas. Teste realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Junho	15,5 ± 4,6 ^{AB}	14,3 ± 4,2 ^{AB}	15,7 ± 5,7 ^B	13,5 ± 4,6 ^{AB}
Julho	15,3 ± 6,0 ^{AB}	15,5 ± 6,6 ^{AB}	13,2 ± 3,6 ^{AB}	15,5 ± 6,1 ^B
Agosto	23,5 ± 3,9 ^{ab, C}	25,1 ± 0,1 ^{a, C}	21,0 ± 4,2 ^{b, C}	22,2 ± 3,9 ^{ab, C}
Setembro	16,0 ± 5,5 ^{AB}	15,3 ± 5,1 ^{AB}	14,3 ± 3,3 ^{AB}	14,9 ± 3,7 ^B
Outubro	16,6 ± 5,4 ^B	14,2 ± 4,3 ^{AB}	15,4 ± 3,9 ^{BD}	13,0 ± 3,1 ^{AB}
Novembro	13,1 ± 3,6 ^{AB}	13,7 ± 3,3 ^{AB}	10,3 ± 2,5 ^{AD}	11,8 ± 3,2 ^{AB}
Dezembro	12,4 ± 3,0 ^{AB}	13,0 ± 2,5 ^{AB}	11,8 ± 3,4 ^{AB}	12,7 ± 2,5 ^{AB}
Janeiro	11,0 ± 2,9 ^A	11,2 ± 2,0 ^A	9,3 ± 1,3 ^A	9,2 ± 1,9 ^A
Fevereiro	14,1 ± 3,7 ^{AB}	12,5 ± 2,6 ^{AB}	13,6 ± 3,6 ^{AB}	15,5 ± 3,6 ^B
Março	11,3 ± 3,3 ^A	13,5 ± 3,4 ^{AB}	10,1 ± 1,6 ^A	13,4 ± 3,4 ^{AB}
Abril	14,7 ± 3,9 ^{AB}	15,3 ± 3,8 ^{AB}	11,7 ± 1,8 ^{AB}	14,8 ± 2,6 ^B
Maio	17,4 ± 5,1 ^{a, B}	16,6 ± 4,8 ^{ab, B}	13,3 ± 4,6 ^{b, AB}	16,5 ± 5,0 ^{ab, B}

Valores expressos em média ± desvio padrão.

Figura 12: Média ± erro padrão da latência do reflexo de retirada do membro pélvico (LRM) em resposta a estímulo térmico aplicado na superfície plantar (segundos), em teste plantar com iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido (n=6) mantidas em condições ambientais controladas. Teste realizado ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês e letras maiúsculas entre meses.



Os valores de LRM obtidos para as iguanas-verdes variaram tanto ao longo do ano, quanto ao longo do dia. Todos os horários do mês de Agosto apresentaram maiores valores de LRM que os outros meses do ano. A LRM foi maior à 0:00h durante os meses de Outubro e Maio em comparação com Janeiro e Março, e às 6:00h em comparação com Janeiro. Às 12:00h, Junho teve maior LRM que Novembro, Janeiro e Março, enquanto em Outubro foi maior que Janeiro e Março. Às 18:00h, a LRM foi maior em Julho, Setembro, Fevereiro, Abril e Maio que Janeiro. Oscilações na atividade nociceptiva ao longo do dia foram detectadas somente nos meses de Agosto e Maio, nos quais os valores de LRM às 12:00h foram menores que 6:00h e 0:00h, respectivamente.

5.4 TEMPERATURA CORPORAL

Devido à alta correlação entre temperatura corporal e atividade metabólica, um dos fatores que poderia influenciar as variáveis estudadas neste trabalho consiste na temperatura dos animais. Como os animais foram mantidos em um ambiente que permite termorregulação durante a fotofase, com gradiente de temperatura entre a temperatura ambiente (24 a 30°C) e a temperatura abaixo do foco de luz incandescente (40 a 45°C), estes podem apresentar variações em temperatura corporal ao longo do dia e do ano, e conseqüentemente em seu metabolismo. Por esse motivo, a temperatura dos teiús (Tabela 7; Figura 12) e das iguanas-verdes (Tabela 8; Figura 13) foi mensurada imediatamente antes a realização de todos testes comportamentais para verificar sua influência sobre os resultados obtidos.

A temperatura subcutânea dos teiús demonstrou grande variabilidade, tanto ao longo do dia dentro de cada mês, quanto em cada horário ao longo do ano. Menores variações de temperatura ao longo do ano foram detectadas nos horários de 0:00h e 6:00h. Somente nos meses de Março e Abril de 2016 não foram encontradas diferenças significativas nas temperaturas dos animais entre os diferentes horários do dia.

Tabela 7: Média \pm desvio padrão das temperaturas subcutâneas ($^{\circ}\text{C}$) de seis teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidos em condições ambientais controladas, mensuradas ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	27,9 \pm 0,4 ^{a, AB}	30,3 \pm 3,6 ^{b, A}	34,1 \pm 2,4 ^{c, ABC}	29,8 \pm 1,7 ^{ab, EFG}
Fevereiro	28,0 \pm 0,5 ^{a, AB}	29,4 \pm 3,4 ^{ac, AB}	35,0 \pm 1,7 ^{b, AB}	31,1 \pm 2,3 ^{c, AEFG}
Março	28,1 \pm 0,8 ^{a, AB}	30,3 \pm 3,2 ^{ac, A}	35,4 \pm 1,7 ^{b, A}	32,5 \pm 2,7 ^{c, AEFG}
Abril	27,6 \pm 0,8 ^{a, AB}	26,8 \pm 0,6 ^{a, B}	34,6 \pm 3,3 ^{b, AB}	34,1 \pm 2,0 ^{b, AB}
Mai	27,6 \pm 0,7 ^{a, AB}	29,3 \pm 1,1 ^{a, AB}	34,1 \pm 2,7 ^{b, ABC}	33,4 \pm 2,4 ^{b, AD}
Junho	27,5 \pm 0,7 ^{a, AB}	29,0 \pm 0,8 ^{ab, AB}	31,9 \pm 1,7 ^{c, BE}	30,5 \pm 1,6 ^{bc, DEH}
Julho	26,4 \pm 0,8 ^{a, B}	28,2 \pm 2,5 ^{ab, AB}	32,0 \pm 2,1 ^{c, BE}	30,4 \pm 2,0 ^{bc, DF}
Agosto	27,3 \pm 0,3 ^{a, AB}	28,4 \pm 2,9 ^{a, AB}	34,3 \pm 1,9 ^{b, ABC}	34,0 \pm 2,0 ^{b, A}
Setembro	28,5 \pm 0,3 ^{a, AB}	28,9 \pm 1,2 ^{a, AB}	33,8 \pm 0,5 ^{b, ABC}	31,7 \pm 1,7 ^{b, AEFG}
Outubro	29,4 \pm 0,8 ^{a, AB}	29,7 \pm 0,5 ^{a, AB}	34,2 \pm 1,4 ^{b, ABC}	33,6 \pm 1,2 ^{b, ACH}
Novembro	29,1 \pm 0,6 ^{a, AB}	29,2 \pm 1,1 ^{a, AB}	33,2 \pm 1,4 ^{b, ABCD}	30,7 \pm 1,2 ^{a, CDG}
Dezembro	30,0 \pm 0,8 ^{a, A}	30,1 \pm 1,9 ^{a, A}	34,3 \pm 0,7 ^{b, ABC}	32,7 \pm 1,7 ^{b, AEFG}
Janeiro	29,9 \pm 0,9 ^{a, AB}	29,0 \pm 0,7 ^{a, AB}	33,4 \pm 0,9 ^{b, ABCD}	32,0 \pm 2,1 ^{b, AEFG}
Fevereiro	29,9 \pm 1,5 ^{ac, A}	28,9 \pm 1,6 ^{a, AB}	33,2 \pm 1,7 ^{bc, ABCD}	31,7 \pm 1,7 ^{c, AEFG}
Março	29,0 \pm 0,4 ^{AB}	28,5 \pm 0,4 ^{AB}	29,4 \pm 0,9 ^E	29,9 \pm 0,8 ^{EFG}
Abril	28,2 \pm 0,5 ^{AB}	29,5 \pm 2,4 ^{AB}	30,3 \pm 1,9 ^{DE}	30,5 \pm 1,0 ^{CDG}
Mai	27,3 \pm 1,0 ^{a, AB}	30,5 \pm 4,5 ^{b, A}	31,2 \pm 3,5 ^{b, CE}	31,0 \pm 1,8 ^{b, ABEFG}

Figura 12: Média \pm erro padrão das temperaturas subcutâneas ($^{\circ}\text{C}$) de seis teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidos em condições ambientais controladas, mensuradas ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro de 2015 a Maio de 2016). Diferenças estatísticas como na tabela 7.

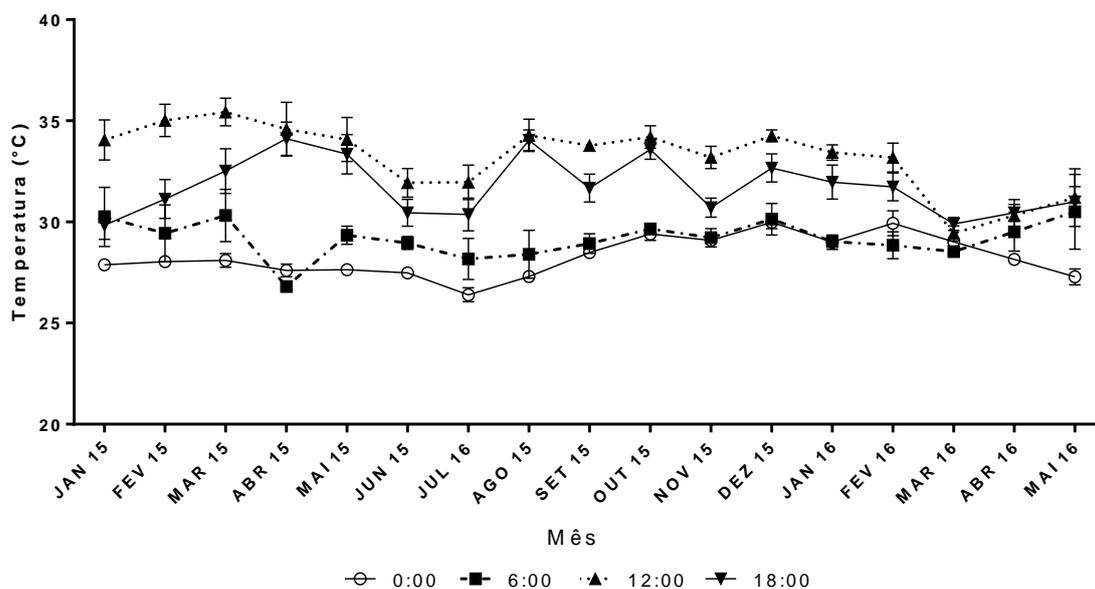
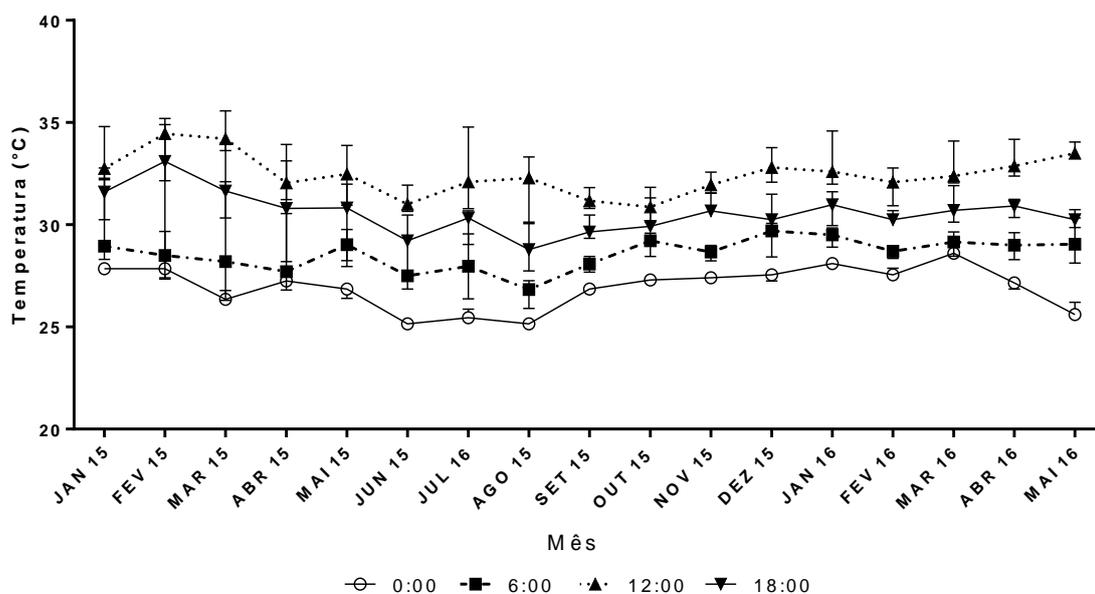


Tabela 8: Média \pm desvio padrão das temperaturas subcutâneas ($^{\circ}\text{C}$) de seis iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidas em condições ambientais controladas, mensuradas ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Janeiro de 2015 a Maio de 2016). Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística dentro de um mês, letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre meses.

Mês	Horário			
	0:00h	6:00h	12:00h	18:00h
Janeiro	27,9 [27,7; 27,9] ^{a, AC}	29,0 [28,8; 31,3] ^{ab, AB}	32,8 [32,4; 34,2] ^b	31,6 [31,1; 32,3] ^{ab, AB}
Fevereiro	27,9 [27,5; 28,2] ^{a, AC}	28,5 [27,6; 29,1] ^{ab, AB}	34,5 [29,8; 34,7] ^b	33,1 [32,4; 34,5] ^{b, A}
Março	26,4 [26,2; 26,7] ^{a, BCDE}	28,2 [26,7; 31,0] ^{a, AB}	34,2 [33,8; 35,1] ^b	31,7 [30,4; 33,3] ^{ab, AB}
Abril	27,3 [27,1; 27,4] ^{a, AEFG}	27,7 [26,9; 29,8] ^{a, AB}	32,1 [31,4; 32,8] ^b	30,8 [28,9; 32,6] ^{ab, AB}
Mai	26,8 [26,5; 26,9] ^{a, BCDE}	29,0 [28,5; 29,7] ^{ab, AB}	32,5 [31,3; 33,4] ^b	30,8 [29,0; 31,4] ^{ab, AB}
Junho	25,2 [25,0; 25,4] ^{a, EFG}	27,5 [27,3; 27,5] ^{ab, AB}	31,0 [30,8; 31,7] ^b	29,2 [28,3; 30,0] ^{b, B}
Julho	25,5 [25,3; 25,7] ^{a, DG}	28,0 [27,0; 29,1] ^{ab, AB}	32,1 [31,2; 33,8] ^b	30,3 [29,6; 30,6] ^{ab, AB}
Agosto	25,1 [25,1; 25,3] ^{a, EFG}	26,8 [26,3; 26,9] ^{ab, B}	32,3 [30,7; 33,0] ^b	28,8 [28,0; 29,7] ^{b, B}
Setembro	26,9 [26,8; 27,0] ^{a, AEFG}	28,1 [27,9; 28,3] ^{ab, AB}	31,2 [30,9; 31,6] ^c	29,7 [29,4; 30,2] ^{bc, B}
Outubro	27,3 [27,2; 27,5] ^{a, AEFG}	29,2 [28,6; 29,5] ^{ab, AB}	30,9 [30,2; 31,7] ^b	29,9 [29,8; 30,8] ^{b, AB}
Novembro	27,4 [27,3; 27,6] ^{a, AEFG}	28,7 [28,4; 28,9] ^{ab, AB}	32,0 [31,8; 32,2] ^b	30,7 [30,5; 31,2] ^{b, AB}
Dezembro	27,6 [27,3; 27,7] ^{a, AD}	29,7 [28,9; 29,9] ^{a, AB}	32,8 [32,2; 33,2] ^b	30,3 [29,9; 31,2] ^{ab, AB}
Janeiro	28,1 [28,1; 28,2] ^{a, AB}	29,5 [29,0; 29,7] ^{ab, A}	32,6 [32,3; 33,6] ^c	31,0 [30,2; 31,3] ^{bc, AB}
Fevereiro	27,6 [27,5; 27,6] ^{a, AD}	28,7 [28,5; 28,7] ^{a, AB}	32,1 [31,3; 32,6] ^b	30,3 [30,2; 30,3] ^{ab, AB}
Março	28,6 [28,5; 28,7] ^{a, A}	29,1 [28,6; 29,5] ^{ab, AB}	32,4 [32,1; 33,7] ^c	30,7 [30,3; 31,6] ^{bc, AB}
Abril	27,2 [27,0; 27,2] ^{a, AEFG}	29,0 [28,5; 29,3] ^{ab, AB}	32,9 [32,8; 33,8] ^c	30,9 [30,5; 31,2] ^{bc, AB}
Mai	25,6 [25,4; 25,8] ^{a, CDF}	29,0 [28,4; 29,6] ^{ab, AB}	33,5 [33,3; 33,7] ^b	30,3 [30,0; 30,6] ^{ab, AB}

Figura 13: Mediana \pm intervalo interquartil das temperaturas subcutâneas ($^{\circ}\text{C}$) de seis iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidas em condições ambientais controladas, mensuradas ao longo do dia (0:00h, 6:00h, 12:00h e 18:00h), e ao longo do ano (Junho de 2015 a Maio de 2016). Diferenças significativas como na Tabela 8.



A temperatura das iguanas-verdes foi diferente tanto ao longo do ano, quanto ao longo dos dias na comparação entre horários. Na análise sazonal, detectou-se maior variação à 0:00h, enquanto que na análise diária, a maior variação foi observada nos meses de Setembro de 2015 e Janeiro, Março e Abril de 2016, com menores temperaturas às 0:00h e 6:00h.

5.5 VARIÁVEIS DEPENDENTES *VERSUS* TEMPERATURA E PESO

Com o intuito de verificar se essas oscilações de temperatura ao longo do dia e ao longo do ano, bem como o desenvolvimento dos animais poderiam influenciar nas variáveis dependentes do presente estudo, um teste de correlação simples foi realizado. Os resultados dos testes de correlação entre as variáveis dependentes dos teiús e das iguanas-verdes encontram-se na Tabela 9 e na Tabela 10, respectivamente.

Tabela 9: Coeficiente de correlação (r), coeficiente de determinação (r^2) e p-valor obtidos no teste de correlação simples entre a temperatura do subcutâneo ou peso de seis teiús (*Salvator merianae*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidos em condições ambientais controladas em comparação com a latência de saída do círculo central (LSCC) e a atividade locomotora espontânea em teste de campo aberto, e a latência do reflexo de retirada do membro em resposta a estímulo nociceptivo em teste plantar.

Teste	Variável	Temperatura			Peso		
		r	r^2	p-valor	R	r^2	p-valor
Campo Aberto	LSCC	- 0,407	0,166	$6,0 \cdot 10^{-13}$	- 0,283	0,080	0,000001
	ALE	0,571	0,326	$2,4 \cdot 10^{-26}$	- 0,004	0,000	0,941317
Plantar	LRM	- 0,509	0,259	$2,0 \cdot 10^{-20}$	0,109	0,012	0,066000

Os maiores índices de correlação encontrados para os teiús consistiram nos resultados obtidos para temperatura corporal *versus* latência de saída do círculo central e atividade locomotora em teste de campo aberto, além da latência do reflexo de retirada do membro, em teste plantar. Tanto em temperatura *versus* LSCC e em temperatura *versus* LRM os índices de correlação foram negativos, enquanto que em temperatura *versus* ALE, o índice foi positivo. Nos três casos o p-valor foi inferior ao nível de significância, indicando que há uma correlação presente entre as variáveis. Já no caso do teste de correlação entre as variáveis dependentes e o peso, somente peso *versus* LSCC apresentaram um p-valor significativo e o índice de correlação foi negativo.

Tabela 10: Coeficiente de correlação (r), coeficiente de determinação (r^2) e p-valor obtidos no teste de correlação simples entre a temperatura do subcutâneo ou peso de seis iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens e de sexo indefinido ($n=6$) mantidas em condições ambientais controladas, em comparação com a latência de saída do círculo central (LSCC) e a atividade locomotora espontânea (ALE) em teste de campo aberto, a latência do reflexo de retirada do membro em resposta a estímulo nociceptivo (LRM) em teste plantar e o tempo de atividade (TA) em teste de natação forçada.

Teste	Variável	Temperatura			Peso		
		R	r^2	p-valor	R	r^2	p-valor
Campo Aberto	LSCC	- 0,224	0,050	0,000125	- 0,032	0,001	0,590103
	ALE	0,329	0,108	$1,06 \cdot 10^{-8}$	- 0,072	0,005	0,223526
Plantar	LRM	- 0,412	0,170	$2,97 \cdot 10^{-13}$	- 0,002	0,000	0,976000
Natação Forçada	TA	0,129	0,166	0,028869	- 0,311	0,097	$7,24 \cdot 10^{-8}$

De maneira semelhante ao que foi observado com os teiús, de acordo com o p-valor, houve correlação entre todas as variáveis dependentes avaliadas e a temperatura corporal, sendo que as correlações entre temperatura e latência de saída do círculo central, latência do reflexo de retirada e tempo de atividade foram negativas, e entre temperatura e atividade locomotora espontânea foi positiva. No teste de correlação entre as variáveis dependentes e o peso, somente o p-valor da correlação peso *versus* tempo de atividade foi significativo, enquanto o índice foi negativo, demonstrando uma correlação negativa fraca.

6. DISCUSSÃO

A análise comportamental de teiús e iguanas-verdes através dos testes de campo aberto (atividade locomotora), natação forçada (atividade locomotora) e plantar (atividade nociceptiva) demonstraram que esses animais podem apresentar respostas diferentes aos testes nos diferentes horários do dia e diferentes meses do ano. Oscilações ao longo do ano foram detectadas para os teiús no teste plantar e para as iguanas nos testes plantar e de natação forçada. Oscilações ao longo do dia foram detectadas em todos os testes de ambas as espécies.

6.1 TESTE DE CAMPO ABERTO

A análise da atividade locomotora de teiús e iguanas-verdes através do teste de campo aberto demonstrou ausência de oscilações estatísticas na LSCC e na ALE de ambas as espécies na análise do perfil diário. Isso significa que os valores de ambas as

variáveis às 0:00h não aumentaram nem diminuíram ao longo do ano, assim como às 6:00h, 12:00h e 18:00h. A ausência de diferença estatística entre os meses possivelmente está correlacionada com a grande variabilidade de resultados detectada entre indivíduos, principalmente referente à LSCC e visualizada de forma mais frequente nas iguanas-verdes. Grande variabilidade em resposta comportamental apresentada pelos animais era verificada entre indivíduos em um mesmo horário do dia e no mesmo mês do ano, sendo que alguns animais podiam permanecer no círculo central e outros caminhavam durante toda a avaliação. Como consequência, intervalos interquartis consideráveis foram observados em ambas variáveis, com variações podendo atingir até 836 segundos (0:00h de Março) em LSCC e 103 pontos (18:00h de Julho) em ALE e um coeficiente de dispersão atingindo 0,99 (LSCC; 0:00h de Março) nos teiús. De forma semelhante, variações de 739 segundos (6:00h de Julho) e 186 pontos (12:00h de Março) e coeficiente de 1,00 (ALE; 0:00h de Julho) foram observados nas iguanas-verdes.

Alta variação entre indivíduos também foi detectada por Chiszar e Carter (1975) ao avaliarem o número de dardejamentos de língua e de travessias de quadrados em arena de campo aberto em serpentes da espécie *Thamnophis radix* em ensaios de 10 minutos realizados por 10 dias consecutivos. Contudo, ao testarem a correlação entre os resultados de cada dia de avaliação para cada um dos indivíduos, esses autores verificaram que os animais demonstravam um padrão individual de comportamento que se mantinha constante ao longo dos dias. No presente estudo, um padrão individual não parece ter sido mantido, pois variações amplas dos mesmos indivíduos também foram verificadas em diversas ocasiões. Adição de objetos ao campo aberto em estudo piloto (PRUT; BELZUNG; 2003) como galhos para escalar ou lâmpada incandescente como foco de calor para basking não pareceram minimizar a variação individual em comportamento em estudo piloto com iguanas-verdes.

Mesmo com uma ampla variabilidade nos resultados individuais, diferenças significativas foram detectadas no perfil diário, em diversos meses do ano. Em teiús, oscilações diárias em LSCC foram detectadas em Janeiro, Fevereiro e Setembro, com menores latências às 12:00h, e em ALE em todos os meses exceto Janeiro, com maiores atividades às 12:00h e/ou 18:00h. Em contrapartida, as iguanas apresentaram oscilações em LSCC em Abril, Maio e Junho, com maiores latências às 0:00h, e em ALE em Abril, Maio, Junho e Outubro, com maiores atividades às 18:00h e menores às 0:00h. Esses resultados indicam que, mesmo a atividade locomotora em teste de campo aberto

aparentemente não apresentando oscilações ao longo do ano, ao longo do dia o comportamento dos animais é estatisticamente variável. Dessa maneira, estudos que avaliam esse parâmetro comportamental em diferentes momentos do dia, devem exercer cautela ao interpretar os dados obtidos.

Oscilações na atividade locomotora ao longo do dia eram esperadas em ambas as espécies, principalmente devido às oscilações diárias que esses animais têm em sua temperatura em resposta à termorregulação comportamental (GOULART, 2007), influenciando diretamente o metabolismo (BENNET; DAWSON, 1976) e o comportamento (VAN SLUYS, 1992). De fato, os animais pareceram apresentar, de maneira geral, menores valores de LSCC e maiores valores de ALE às 12:00h ou 18:00h, horários nos quais os animais geralmente haviam realizado *basking* na lâmpada incandescente para aquecimento do corpo. Contudo, a presença ou não de correlação entre as variáveis estudadas e a temperatura corporal serão mais bem discutidas posteriormente (ver item 6.5). O que não era esperado era a manutenção de uma atividade fixa ao longo do dia em determinados meses do ano, principalmente na ALE de iguanas, que pode estar correlacionada também com a maior variabilidade em resultados obtidos.

Ampla variabilidade dentro de cada variável comportamental foi detectada, mas também entre LSCC e ALE. Ao longo do experimento, detectou-se que muitos animais apresentavam um comportamento explosivo de fuga inicial, seguido de baixa ou mesmo ausente atividade locomotora ao longo do tempo de avaliação. Esse comportamento foi anteriormente relatado por Herzog e Bugardt (1986), levando esses autores a afirmar que a cronometragem do tempo de locomoção consiste em um parâmetro mais confiável para a avaliação da atividade dos animais, ao invés da latência de saída do centro da arena. Apesar disso, a importância dessa variável não deve ser negligenciada e as variáveis que a influenciam devem ser determinadas, para que esse comportamento possa ser interpretado adequadamente. Um fator com grande potencial de correlação com o período de LSCC consiste no estresse durante a contenção e transporte até o centro da arena. Apesar de todos os animais utilizados no presente estudo serem constantemente manipulados e acostumados ao manejo desde que transferidos para a Instituição de origem, algum evento estressante durante a captura e transferência para a arena, além da susceptibilidade individual a estresse, poderiam levar a uma resposta inicial de fuga ao serem posicionados no centro da arena, culminando em um período curto de LSCC, mas sem estímulo para deambulação na mesma.

De forma geral, em pequenos roedores, o tempo de permanência na região central da arena está correlacionado com comportamento de estresse. Devido ao comportamento gregário e a preferência por habitats pequenos e escuros que ratos e camundongos apresentam, a transferência de um único indivíduo para a área ampla e bem iluminada do campo aberto desencadeia comportamento de ansiedade nesses animais (agorafobia) (PRUT; BELZUNG, 2003). Esse fator, combinado com o comportamento inato que esses animais têm de andar em contato com superfícies verticais (tigmotaxia) e com o intuito de evitar predadores (BARNETT, 1975), faz com que tenham preferência por regiões periféricas da arena (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009), permitindo com que a eficácia de fármacos ansiolíticos possa ser testada sob essas condições experimentais (HAZIM et al., 2014). Assim, quando utilizado para análise de outras espécies, o teste de campo aberto pode ter diferentes aplicabilidades e seu comportamento natural deve ser levado em consideração para a interpretação dos resultados. Prut e Belzung (2003) sugerem que em espécies que habitam campos abertos, a avaliação por meio do teste de campo aberto não forneceria informações sobre estresse e ansiedade, mas possivelmente sobre sua atividade exploratória (PRUT; BELZUNG, 2003).

O comportamento gregário já foi descrito em diversas espécies de lagartos (SHUTTLEWORTH, 2006), e ocorre em resposta a uma atração mútua por características ambientais limitadas ou a outros indivíduos da mesma espécie (GRAVES; DUVALL, 1995). Esse comportamento já foi descrito tanto de forma temporária (WINCK; BLANCO; CECHIN, 2011), quanto de forma duradoura (BULL et al., 2000; DUFFIELD; BULL, 2002), sendo o primeiro mais comum e o último tendo sido visualizado em poucas espécies. Nos teiús, comportamento gregário foi descrito durante estudo de monitoração de 56 indivíduos da espécie, por 9 meses em uma estação ecológica localizada no Rio Grande do Sul (WINCK; BLANCO; CECHIN, 2011), mas poucas informações estão disponíveis sobre a frequência e complexidade desses agrupamentos. Em iguanas-verdes, o comportamento gregário já foi observado em animais neonatos que emergem dos ovos, os quais formam grupos de ninhadas mistas e migram em conjunto (BURGHARDT; GREENE; RAND, 1977), sendo esse comportamento caracterizado como social e complexo, não transitório e associado a uma maior taxa de crescimento de animais jovens (BURGHARDT; RAND, 1985).

Além das diferenças comportamentais, divergências em habitat também podem influenciar os resultados obtidos no teste de campo aberto. Amplamente distribuídos por

toda a América do Sul, os teiús são animais generalistas com relação a seu habitat, podendo viver em campos abertos, florestas fechadas, fragmentos de florestas ou até ambientes antropizados (AVILA-PIRES, 1995; SÁZIMA; HADDAD; MORELLATO, 1992; WERNECK; COLLI, 2006). Já as iguanas-verdes, com distribuição mais restrita à região tropical da América do Sul e hábitos arborícolas, têm preferência por habitats florestais que margeiam corpos d'água corrente (HUTCHINSON; LARIMER, 1960). Características gregárias de iguanas jovens combinadas com seu hábito arborícola e preferência por regiões florestais poderiam ser indicativos de maior susceptibilidade a estresse por separação do grupo e introdução na área aberta da arena do campo aberto, podendo levar conseqüentemente a maiores variabilidades nos resultados. Enquanto isso, as características terrícola e generalista dos teiús podem fazer com que esses sejam mais tolerantes ao estresse da arena, o que poderia explicar a maior variabilidade e inconsistência observada com as iguanas. Contudo, essas inferências baseadas nos comportamentos dos animais devem ser comprovadas através de estudos etológicos futuros.

Existem muitas contradições entre pesquisadores sobre o significado da atividade locomotora espontânea, mensurada pelo número de travessias realizadas pelos animais nas subdivisões da arena. Alguns exemplos de seu uso consistem na análise da atividade locomotora basal da espécie ou linhagem (HERZOG; BURGHARDT, 1986; KIM et al., 2007) e a avaliação de efeitos sedativos (CRAWLEY, 1981) e estimulantes (BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000) de fármacos. Dentre esses, o uso do teste para obtenção de informações sobre a atividade locomotora basal tornou-se extremamente popular, principalmente na análise de linhagens mutantes de camundongos. Contudo, de acordo com Stanford (2007), deve-se ter muita cautela na análise do teste para esse intuito, principalmente devido à ausência de padronização de protocolos entre laboratórios e a influência da emotividade sobre o comportamento dos animais na arena. A autora vai além e ainda indica que a melhor forma de avaliar a atividade locomotora basal dos animais consiste na análise em suas próprias gaiolas de manutenção, de preferência durante sua fase de maior atividade diária. Em contrapartida, Mill et al. (2002) verificaram que a atividade locomotora de camundongos em campo aberto tem associação crescente com a atividade em gaiola de manutenção a partir de 3 minutos de avaliação, fornecendo portanto informações válidas sobre a atividade locomotora basal dos animais, após um tempo de habituação.

No presente estudo, uma fase de aclimação à arena do campo aberto foi realizada anteriormente ao início do experimento (30 minutos por 10 dias consecutivos), com o intuito de promover habituação dos animais com as condições experimentais e permitir a avaliação da atividade locomotora ao longo dos momentos de interesse. Contudo, não se pode afirmar que esse tempo de aclimação aboliu completamente a influência do estresse sobre a atividade locomotora dos animais, principalmente devido à janela de intervalo entre um mês de avaliação e o outro. Portanto, é possível que o padrão de atividade dos animais no campo aberto se altere nos minutos iniciais, assim como observado por Mill et al. (2002) e que essa habituação tenha diferentes perfis nos diferentes horários e meses do ano. Habituação durante o teste de campo aberto também foi observada em serpentes da espécie *T. radix* quando o dardejamento de língua dos animais foi quantificado por cinco minutos, durante oito dias consecutivos (CHISZAR et al., 1976). Nesse estudo foi detectado um decréscimo da variável ao longo dos 5 minutos de avaliação, mas o perfil de decréscimo se manteve ao longo dos dias. Dessa maneira, a avaliação de possíveis modificações dos diferentes comportamentos ao longo do tempo também pode demonstrar informações essenciais sobre o comportamento dos animais.

É inquestionável que grande parte da polêmica sobre os diversos usos do teste de campo aberto esteja correlacionada com o número de fatores que podem influenciar o teste e levar a variabilidade de seus resultados. Esses fatores podem estar correlacionados com os animais (idade, sexo, linhagem, manejo), com características da arena usada (tamanho, formato, coloração e textura), com a metodologia (exposição anterior ao teste ou outros testes comportamentais, horário do dia), entre outros fatores (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009). No presente estudo, os animais possuíam a mesma origem, idade, sexo, linhagem e manejo, além de serem submetidos a uma metodologia padronizada, com utilização sempre da mesma arena, da mesma sala de avaliação e dos mesmos métodos. Consequentemente, a influência de todas essas fontes de variação foi minimizada. Contudo, três fatores têm grande importância para o presente estudo e devem ser considerados: o comportamento de dominância entre os animais, o manejo alimentar anterior ao experimento e a idade dos animais.

O comportamento de dominância é comum em certos indivíduos quando animais são mantidos em grupos. O desenvolvimento de hierarquia leva a uma situação de estresse social crônico, que pode desencadear mudanças comportamentais tanto nos indivíduos subordinados, quanto nos indivíduos dominantes (SCHELLINCK; CYR;

BROWN, 2010). Em colônias de ratos com padrões hierárquicos bem estabelecidos, foi observado que os animais dominantes apresentaram maiores escores de deambulação em teste de campo aberto, em comparação com os indivíduos subordinados (RAAB et al., 1986). Apesar do comportamento dos indivíduos do presente estudo não ter sido investigado, sinais de comportamentos agonísticos e de dominância entre os animais de ambas as espécies foram observados no decorrer do ano de avaliação, e esse fator pode ter influenciado a atividade em campo aberto.

O manejo alimentar consiste também em um parâmetro que pode influenciar a atividade locomotora em teste de campo aberto. Ratos que foram expostos à restrição alimentar crônica por seis dias antes do início do teste de campo aberto apresentam maior atividade locomotora em comparação com animais que tiveram restrição hídrica e que os animais controle (HEIDERSTADT et al., 2000). Serpentes da espécie *T. radix* que receberam alimentação diariamente apresentaram maior declínio em sua atividade locomotora ao longo do tempo de permanência na arena, em comparação com animais que foram alimentados uma ou nenhuma vez ao longo do experimento com duração de 10 dias (CHISZAR et al., 1976).

Apesar de a restrição alimentar funcionar sabidamente como um fator motivacional em pequenos roedores (HEIDERSTADT et al., 2000), em répteis a resposta a diferentes regimes alimentares pode estar correlacionada com outros fatores, como a redução da atividade para priorizar sua digestão. Foi demonstrado que teiús abolem por dois dias suas oscilações metabólicas diárias, mensuradas por taxa de consumo de oxigênio, após alimentação *ad libitum* com cerca de 14% de seu peso em carne e que incrementos metabólicos referentes a suas atividades diárias normais se somam à atividade metabólica digestiva somente a partir do terceiro dia (KLEIN et al., 2006).

No presente estudo, os animais foram submetidos aos testes comportamentais com jejum alimentar de 12 a 36 horas, tendo sempre sido alimentados 12 horas antes do primeiro momento de avaliação de cada mês. Como não foi possível estabelecer um tempo de jejum fixo para todos os horários do mês, é possível que, com o decorrer do experimento a cada mês, os animais apresentassem um incremento na atividade locomotora devido ao prolongamento do jejum. No caso dos teiús, a quantidade ingerida por cada animal não foi controlada ao longo do ano, devido à competição entre indivíduos e ao apetite individual. Contudo, a quantidade máxima de alimento que um animal poderia ingerir (caso nenhum outro animal no mesmo recinto se alimentasse)

não ultrapassou 6,5% do peso dos animais e, portanto uma resposta tão acentuada quanto à supracitada não seria esperada nesses animais. Os efeitos do jejum e da alimentação sobre a atividade locomotora dos teiús e iguanas em teste de campo aberto devem ser investigados.

O terceiro fator de grande importância a ser considerado no presente estudo consiste na idade dos animais. Como o presente estudo envolveu uma fase de 17 meses de coleta de dados é possível que alterações comportamentais decorrentes do amadurecimento dos animais possam ter ocorrido. Contudo, as alterações observadas não pareceram apresentar um padrão progressivo que possa estar correlacionado com a idade. Uma forma de avaliar se esse fator tem maior influência sobre o comportamento dos animais que o fator sazonal consistiria na análise repetida dos mesmos indivíduos por dois anos consecutivos para verificar se o comportamento se repete nos respectivos meses (oscilação sazonal) ou se ele se altera em relação ao ano anterior.

6.2 TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA

No presente testudo, os testes de campo aberto e de natação forçada foram utilizados com o mesmo intuito de avaliar a atividade locomotora de iguanas-verdes ao longo do dia e do ano. Contudo esses testes apresentam resultados divergentes entre si. Enquanto no teste de campo aberto oscilações sazonais não foram observadas, no teste de natação forçada menores tempos de atividade foram detectados, principalmente às 0:00h e 18:00h de Janeiro em comparação com Setembro. Além disso, oscilações na atividade diária foram detectadas somente em quatro meses no teste de campo aberto, mas foram detectadas em todos os meses no teste de natação forçada, com valores de PA às 0:00h menores em comparação com 12:00h (todos os meses), 18:00h (8 meses) e 6:00h (6 meses).

A correlação entre a atividade locomotora mensurada em outros testes comportamentais e os resultados do teste de natação forçada já anteriormente investigados. White et al. (2007) demonstraram que ratos altamente reativos quando submetidos à análise da atividade locomotora em arena de acrílico sem aclimação prévia, apresentaram alteração no padrão comportamental de atividade no teste de natação foçada. Em contrapartida, Armario et al. (1991), ao estudarem a resposta comportamental de ratos a diversos tipos de estressores, verificaram que não houve relação entre a resposta locomotora em teste de tábua de buraco (*“holeboard”*) e os comportamentos observados em teste de natação forçada.

É essencial ressaltar que em ambos os estudos, a análise do teste de natação forçada foi realizada de forma quantitativa, como no presente estudo, mas também de forma qualitativa, avaliando os diversos comportamentos que os animais apresentam durante o ensaio. Esse incremento na avaliação foi proposto por Detke e Lucki (1995) e permitiu a detecção do efeito dos fármacos antidepressivos inibidores da recaptção de serotonina pela primeira vez pelo teste de natação forçada, através da descrição e quantificação dos comportamentos de escalada das paredes da piscina e de natação, além do tempo de imobilização. Portanto, essas características podem ser essenciais para detecção de possíveis correlações entre os testes comportamentais aplicados.

Além das diferenças nos padrões de oscilação entre os dois testes, diferença também foi detectada na variabilidade dos resultados entre os indivíduos, ou seja, na repetitividade interindividual do teste. Essa variabilidade foi calculada em ambos os testes através de coeficiente de dispersão (não paramétrico) e de variação (paramétrico), sendo que esses valores atingiram 0,9 para a LSCC, 1,0 para a ALE e 0,6 para a PA, demonstrando menor repetitividade no teste de campo aberto. Essa informação é de grande relevância, pois testes com menor repetitividade têm menor poder de predição e conseqüentemente necessitam de um tamanho amostral maior (CASTAGNÉ et al., 2011). Menores coeficientes de variação no teste de natação forçada podem ser conseqüência de uma maior validade etológica que esse teste apresenta em comparação ao teste de campo aberto, permitindo com que os animais expressem melhor seus comportamentos naturais.

Apesar de apresentar menor variação que o teste de campo aberto, o teste de natação forçada ainda apresenta variação interindividual, com diferenças amplas entre mensurações basais podendo ocorrer entre diferentes laboratórios (BOGDANOVA et al., 2013), ou até mesmo entre animais de uma mesma linhagem (PETIT-DEMOULIERE; CHENU; BOURI, 2005). De forma similar ao teste de campo aberto, essa variação pode ser conseqüência da influência de diversas variáveis, como idade, sexo, manejo e manutenção dos animais, manejo alimentar, comportamento hierárquico, entre outros (BOGDANOVA et al., 2013). Dentre os fatores de variação, destaca-se a influência da temperatura da água sobre o tempo de atividade dos animais.

De acordo com Slattery e Cryan (2012) ratos submetidos a temperaturas elevadas (30°C) tendem a se tornar inativos e flutuar mais, enquanto que ratos submetidos a temperaturas de 15 a 20°C tendem a se tornarem mais ativos. Em contrapartida, Taltavull et al. (2003) demonstraram que ratos submetidos ao teste de

natação em água a 25°C desenvolveram hipotermia cerebral severa associado à redução significativa do tempo de mobilidade. Enquanto isso, animais que nadaram em temperaturas de 37°C não apresentaram imobilidade. Apesar dos dados sobre a influência da temperatura da água sobre a atividade dos pequenos roedores ser controversa, não há dúvida que esse seja um fator importante, principalmente no caso de animais ectotérmicos. No presente estudo, a temperatura da água foi mantida ao longo do dia e do ano a $25,4 \pm 1,9$ °C, em proximidade com a recomendação para o teste em roedores (23 a 25 °C; SLATTERY; CRYAN, 2012) e com a maioria dos estudos realizados atualmente nessas espécies (23°C a 28°C; PETIT-DEMOULIERE; CHENU; BOURI, 2005). Contudo, é questionável que essa temperatura seja a ideal para animais que dependem da temperatura ambiental para elevar sua temperatura corporal e consequentemente seu metabolismo. Estudos com o intuito de determinar e temperatura ótima para o desenvolvimento desse teste e seu impacto sobre o tempo de atividade em iguanas-verdes devem ser realizados.

A análise da PA pelo teste de natação forçada demonstrou maiores atividades ao longo do ano no mês de Setembro em comparação com Julho (18:00h) e Janeiro (0:00h e 18:00h), indicando uma possível influência do ciclo sazonal sobre o teste. Alterações no teste de natação forçada em decorrência de influência sazonal, foram descritas anteriormente em ratos. Um estudo com ratos machos demonstrou que esses animais apresentam-se mais ativos no teste de natação forçada nos meses de verão (Junho a Setembro) em comparação com os meses de inverno (Dezembro a Março) (ABEL, 1995), enquanto que em outro estudo com fêmeas, menores atividades foram detectadas em Fevereiro e Maio em comparação com Agosto e Novembro (AKSOY et al., 2004). No presente estudo, devido à ausência de um perfil claro de oscilação ao longo do ano, a influência de outros fatores de variação, como a temperatura corporal e o peso dos animais, deve ser considerada.

Com relação ao ciclo diário, uma alteração clara ao longo do dia foi observada em todos os meses, com menores tempos de atividade à 0:00h em comparação com 12:00h em todos os meses, com 18:00h em 8 meses e com 6:00h em 6 meses. Esse perfil provavelmente está correlacionado com a oscilação metabólica diárias e de temperatura corporal diária desses animais, sendo que às 6:00h e 12:00h os animais apresentavam a possibilidade de *basking* para aquecimento corporal e às 18:00h, apesar das luzes já estarem apagadas, os animais ainda estavam em processo de perda do calor obtido durante o dia.

Oscilações diárias no teste de natação forçada já foram relatadas anteriormente em pequenos roedores. De maneira semelhante ao observado com as iguanas-verdes, camundongos mantidos em fotoperíodo de 14 horas apresentaram maiores atividades às 12:00h em comparação com 0:00h (DUBOCOVICH; MOGILNICKA; ARESO, 1990) e ratos apresentaram menos comportamentos de fuga das 20:00h à 0:00h em comparação com 8:00 às 12:00h (KELLIHER et al., 2000). Devido ao fato dessas espécies serem endotérmicas, é possível afirmar que as oscilações podem estar correlacionadas com o perfil diário de atividade metabólica dos animais, já que grandes diferenças na temperatura corporal não são encontradas em mamíferos. Independente das causas que levam a essas alterações, a presença de oscilações com significância estatística ao longo do dia e do ano deve ser levada em consideração para a interpretação de resultados em estudos que utilizem esse teste.

6.3 TESTE PLANTAR

A análise de possíveis alterações na resposta nociceptiva de teiús e iguanas-verdes também foi realizada ao longo do dia e ao longo do ano nesse estudo através do uso do teste plantar. De forma geral, os teiús apresentaram maiores valores de LRM à 0:00h e 6:00h nos meses de Agosto e Maio em comparação com os mesmos horários do restante dos meses, enquanto que as iguanas apresentaram variações múltiplas em todos os horários do dia e em todos os meses do ano. As principais alterações observadas nas iguanas foram em todos os horários dos meses de Agosto e Janeiro, que apresentaram maiores e menores valores de LRM, respectivamente. As análises de LRM ao longo do dia demonstraram ausência de oscilações em resposta ao estímulo nociceptivo nos meses de Novembro a Fevereiro para os teiús e presença de oscilações nos meses de Agosto e Maio para as iguanas. Quando presentes, as oscilações em teiús demonstraram maiores períodos de latência às 6:00h que os outros horários do dia e, para as iguanas, menores períodos de latência às 12:00h.

Dentre os testes, o teste plantar foi o que mais demonstrou um padrão de oscilação de atividade que sugere influência do ritmo endógeno sobre o comportamento dos animais, com maiores períodos de latência principalmente nos meses de Junho, Agosto e Maio e menores períodos de latência principalmente em Janeiro e Março. A ausência de oscilações diárias em teiús nos meses de Novembro a Fevereiro também sugerem maior responsividade dos animais mesmo em horários nos quais as lâmpadas encontravam-se apagadas. É possível que esse teste seja menos sensível a outras fontes

de variações que os testes supracitados, e que por esse motivo reflita de forma mais clara a influência do ritmo endógeno dos animais sobre os resultados.

Em análise computacional retrospectiva dos resultados do teste de retirada de cauda aplicado em 8034 camundongos, CHESLER et al. (2002) buscaram investigar fontes de variação nos resultados decorrentes de flutuações naturais no ambiente laboratorial. Dentre as fontes de variação detectadas, o efeito da estação e do horário do dia foram consideradas a terceira e quinta características mais importantes, respectivamente. Ainda mais interessante foi o fato que, no mesmo estudo, os autores detectaram que a fonte de variação de maior influência ao tempo de retirada da cauda consistiu na identidade do pesquisador aplicando o teste, inesperadamente superando o fator genótipo. A idade, o sexo e o nível de experiência dos mesmos não correlacionou com as diferenças observadas e os autores sugerem que essas podem estar correlacionadas com a forma de manejo e manipulação dos animais que podem levar a diferentes níveis de estresse.

No presente estudo, a execução dos testes e a avaliação dos resultados foram realizados sempre pela mesma pessoa, para minimizar esse problema. Contudo, uma exceção consistiu na execução do teste plantar dos teiús e das iguanas-verdes durante o mês de Agosto, que foi realizada por dois indivíduos aos quais os animais já estavam habituados e que já tinham familiaridade com o uso do aparelho de Hargreaves. Dessa maneira, não se pode excluir que os resultados discrepantes encontrados no mês de Agosto estejam em algum grau correlacionados com essa alteração na metodologia, principalmente no caso das iguanas-verdes que são mais sensíveis ao estresse da manipulação.

Em estudo piloto do teste plantar, foi possível verificar que as iguanas apresentavam um comportamento similar ao comportamento de imobilização de pequenos roedores, sendo que alguns indivíduos não apresentavam resposta de retirada ao estímulo doloroso, mesmo após adaptação ao aparato. Esse comportamento parecia ser em resposta à presença do observador e, portanto nessa espécie a instituição de paredes opacas para bloquear a visualização do pesquisador durante a realização do estímulo doloroso foi realizada, minimizando esse problema. De fato, Fleming e Robertson (2006) verificaram que iguanas-verdes submetidas a teste do limiar de temperatura de resposta a um estímulo térmico aplicado na lateral da cauda apresentaram menores valores de limiar (equivalente a menores tempos de LRM deste estudo) quando o observador não estava sob o campo de visão do animal.

6.4 TEMPERATURA CORPORAL

A mensuração da temperatura corporal dos teiús e das iguanas foi realizada com o intuito de verificar a influência dessa sobre as variáveis dependentes estudadas. Era esperado que os animais fossem apresentar padrões cíclicos diários de oscilação em temperatura, em consequência do acendimento das lâmpadas para realização de *basking* entre 6:00h e 18:00h; contudo, devido a sua manutenção em ambiente controlado, esperava-se que as variações ao longo do ano fossem mínimas.

De maneira geral, os teiús apresentaram oscilações diárias na temperatura com maiores valores obtidos às 12:00h em comparação com os outros horários, principalmente à 0:00h. Em muitos meses, as temperaturas às 6:00h e 18:00h se mantiveram em nível intermediário àquelas observadas à 0:00h e 12:00h, pois correspondem a horários de transição entre luz acesa e luz apagada. Esse padrão sazonal era esperado, por refletir o comportamento termorregulatório natural da espécie. De acordo com Andrade et al. (2004b), animais dessa espécie emergem de suas tocas logo após o nascer do sol e se expõem à luz solar por 5 a 7 horas, buscando elevar sua temperatura corporal a uma faixa de 36 a 37°C para realização de suas atividades diárias, e ao final da tarde sua temperatura começa a decrescer ao estado original. Os valores de temperatura atingidos às 12:00h no presente estudo são inferiores àqueles relatados por Andrade et al. (2004b) contudo, apresentam concordância com o que foi verificado por Ribas (2005) após mensuração constante da temperatura corporal de oito animais mantidos em condições ambientais naturais na região de Rio Claro, que atingiram temperaturas máximas de $33,1 \pm 1,9$ °C na fase ativa do ano.

Temperaturas inferiores foram observadas às 12:00h no presente estudo nos meses de Junho e Julho de 2015 e Março, Abril e Maio de 2016. De acordo com Ribas (2005), a temperatura corporal máxima dos teiús durante o dia começa e declinar em Março (início da estação de transição entre fase ativa e dormência) em comparação com a estação ativa e atinge os menores valores entre Maio e Julho (fase de dormência) nos quais ela atinge equilíbrio com o micro-habitat de suas tocas. Essa concordância é mais um indício de que a regulação do comportamento de dormência dos animais tem um fator endógeno importante. Entretanto, é importante ressaltar a diferença discrepante entre os valores de temperatura nos meses de Março de 2015 ($35,4^{\circ}\text{C} \pm 1,7$) e de 2016 ($29,4 \pm 0,9$), que pode ter ocorrido devido à diferença em padrões de atividade no dia das mensurações dos animais, já que durante a transição esses apresentam um

incremento no número de dias de inatividade (se mantêm entocados e não realizam *basking*). Isso é corroborado pelo fato de que esses animais mantiveram a temperatura constante ao longo do dia nos meses de Março e Abril de 2016.

A análise da temperatura corporal das iguanas-verdes demonstrou que esses animais apresentaram um padrão de oscilação diária muito similar aos teiús, com maiores temperaturas às 12:00h e menores à 0:00h ao longo de todo o ano. Em contrapartida, a avaliação sazonal demonstrou uma constância maior na temperatura ao longo do ano nos horários 6:00h, 12:00h e 18:00h. Esse fato provavelmente está correlacionado com a ausência de comportamento sazonal desses animais, que não apresentam dormência. Apesar disso, foi possível verificar uma maior oscilação da temperatura à 0:00h, horário no qual os animais estão mais propensos a mudanças em sua temperatura corporal devido a flutuações na temperatura ambiental. Essa alteração não foi observada nos teiús, principalmente devido à capacidade que esses animais têm de manter sua temperatura acima daquela do ambiente, como verificado na estação ativa (cerca de 5°C acima) por Ribas (2005) e durante a estação reprodutiva (cerca de 10 °C acima) por Tattersall et al. (2016).

Um fato que deve ser destacado consiste no método de mensuração da temperatura dos animais, que no presente estudo foi realizada por leitura de microchip implantado no subcutâneo. Dessa maneira as temperaturas obtidas não são referentes à mensuração da temperatura central, e uma investigação do grau de correlação entre a temperatura fornecida pelo microchip e a central deve ser realizada.

6.5 VARIÁVEIS DEPENDENTES *VERSUS* TEMPERATURA E PESO

Através dos testes de correlação, buscou-se investigar mais a fundo quanto a temperatura corporal e o peso dos animais influenciam as variáveis dependentes do presente estudo, auxiliando a compreensão dos efeitos dos ciclos diários e sazonal sobre as mesmas.

Com relação aos teiús, foi possível verificar que a temperatura corporal apresentou correlação moderada com todas as variáveis estudadas (LSCC, ALE e LRM), enquanto que o peso somente teve correlação leve com LSSC. Portanto, foi verificado que com a elevação da temperatura dos animais, esses tendem a sair do centro da arena do campo aberto mais rapidamente, a andar mais por essa, além de apresentar um tempo de retirada mais rápido em resposta a estímulo doloroso. Todas essas alterações eram esperadas, devido ao aumento no metabolismo que acompanha o

aumento da temperatura corporal. Apesar de ser uma correlação leve, foi verificado também que animais menores tendem a ficar mais tempo no centro da arena do campo aberto que os animais maiores.

No caso das iguanas, houve correlação entre temperatura corporal e as variáveis estudadas, tendo sido moderada no caso da LRM, e leve nos casos da LSCC, ALE e PA; enquanto que o peso influenciou de forma leve o PA. Dessa maneira, incrementos em temperatura corporal em iguanas levaram a decréscimo do período de latência de saída do centro da arena de campo aberto e na latência de retirada do membro em resposta a estímulo doloroso e também a aumento em deambulação em arena de campo aberto e em tempo de atividade em teste de natação forçada.

Nessa espécie, o peso influenciou somente de forma leve e inversa a variável PA, com iguanas mais pesadas permanecendo mais tempo imóvel em teste de natação forçada. Resultados similares foram observados em um estudo investigando a influência do enriquecimento ambiental e o isolamento sobre o comportamento e as variáveis neuroquímicas de ratos, no qual Brenes, Rodríguez e Fornaguera (2008) observaram uma correlação positiva entre tempo de *imobilidade* e o peso dos animais de 0,57. Esses autores relatam o uso da análise de covariância multivariada (MANCOVA) para subtrair estatisticamente o efeito do peso corporal sobre o comportamento no teste de natação forçada.

7. CONCLUSÕES

Através do presente estudo é possível concluir que teiús e iguanas-verdes, mesmo mantidos em ambiente controlado com temperatura da sala entre 24 a 30°C e fotoperíodo de 12h, apresentam oscilações significativas em comportamento observado em teste de campo aberto, teste de natação forçada (somente iguanas) e teste plantar. Conclui-se também que as oscilações parecem seguir padrões diários, que podem variar nos diferentes meses, mas não um padrão sazonais, com exceção do teste plantar, devendo ser influenciada por fatores múltiplos ainda não compreendidos para as espécies.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, E.L. Circannual changes in the duration of the immobility response of rats in the forced swim test. **Physiology & behavior**, v. 58, n. 3, p. 591-593, 1995.
- ALVARADO, J. et al. Reproductive characteristics of a green iguana (*Iguana iguana*) population of the west coast of Mexico. **The Southwestern Naturalist**. v. 40, n. 2, p. 234-237, 1995.
- ANDERSON, C.; ENGE, K.M. *Ctenosaura similis* (Gray's Spiny-tailed Iguana) and *Iguana iguana* (Green Iguana). Carrion Feeding. *Herpetological Review* 43(1): 131. 2012.
- ANDRADE, D .V. et al. Overwintering in tegu lizards. **Biological Papers of the University of Alaska**, n.27, 2004a.
- ANDRADE, D.V. et al. Seasonal changes in blood oxygen transport and acid-base status in the tegu lizard, *Tupinambis merianae*. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v.40, n.2, p.197–208, 2004b.
- ANDREWS, K.; GIBBONS, J.W.; JOCHIMSEN, D.M. Ecological effects of roads on amphibians and reptiles: a literature review. In: MITCHELL, J.C.; JUNG-BROWN, R.E.; BARTHOLOMEW, B. (eds) **Urban herpetology. Herpetological conservation series**. Salt Lake City (UT): Society for the Study of Amphibians and Reptiles, 2008.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- ARENDT, W. J. An observation of *Iguana iguana* feeding on eggs of the cattle egret (*Bulbicus ibis*) at Fox's Bay, Montserrat, West Indies: a case of predation or scavenging? **Caribbean Journal of Science**. v. 22, n. 3-4, p. 221-222, 1986.
- ARIANI, C.V. **Uma ecologia incomum para o gênero *Cnemidophorus*: o caso de *Cnemidophorus lacertoides* (Squamata: Teiidae) em um habitat de restinga do sul do Brasil**. 2008. 71p. Dissertação (Mestrado). UERJ, RJ, Brasil. 2008.
- ARMARIO, A. et al. Influence of various acute stressors on the activity of adult male rats in a holeboard and in the forced swim test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 39, n. 2, p. 373-377, 1991.
- AKSOY, A. et al. Brief Communication: SEASONAL VARIABILITY IN BEHAVIORAL DESPAIR IN FEMALE RATS. **International journal of neuroscience**, v. 114, n. 12, p. 1513-1520, 2004.
- AVERY, A. Nelson. Reptile Bites. In: **Agricultural Medicine**. Springer New York, p. 440-458, 2006.
- AVILA-PIRES, T.C,S. Lizards of brazilian amazonia (Reptilia: Squamata). **Zoologische verhandeligen**, v. 299, n. 1, p. 1-706, 1995.
- BAKER, B.B.; SLADKY, K.K.; JOHNSON, S.M. Evaluation of the analgesic effects of oral and subcutaneous tramadol administration in red-eared slider turtles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 2, p. 220-227, 2011.
- BARNETT, S.A. **The rat: A study in behavior**. Chicago: The University of Chicago Press; 1975.
- BATISTA, N.R. et al. Influência dos sistemas endocanabinóide e opióide na atividade locomotora e no comportamento de aprendizado e memória. **Horizonte Científico**, v. 5, n. 1, 2011.
- BAXTER, L.R. Basal ganglia systems in ritualistic social displays: reptiles and humans; function and illness. **Physiology & behavior**, v. 79, n. 3, p. 451-460, 2003.
- BENNETT, A. F.; DAWSON, W. R. Metabolism. In: GANS, C.; DAWSON, W.R. **Biology of the Reptilia**. Vol. 5. London: Academic Press, p. 127 – 224, 1976.

- BENTON, M. Evolution of Early Amniotes. In _____, **Vertebrate palaeontology**. 4ed. Bristol:Wiley Blackwell, 2015.
- BERGALLO, H.G.; ROCHA, C.F.D. Activity patterns and body temperature of two sympatric lizards with diferente foraging tactics in southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v.14, n.3, p.314-315. 1993.
- BOERNGEN-LACERDA, R.; SOUZA-FORMIGONI, M.L.O. Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties?. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 67, n. 2, p. 225-232, 2000.
- BOGDANOVA, O.V. et al. Factors influencing behavior in the forced swim test. **Physiology & behavior**, v. 118, p. 227-239, 2013.
- BOUTILIER, R.G. et al. Hypometabolic homeostasis in overwintering amphibians. **Journal of Experimental Biology**, v. 200, n.2, p. 387-400, 1997.
- BRENES, J.C.; RODRÍGUEZ, O.; FORNAGUERA, J. Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 89, n. 1, p. 85-93, 2008.
- BRESSAN, T.F.; BISETTO, S.P.; CARREGARO, A.B. Efeitos sedativo e antinociceptivo da morfina e do butorfanol em iguanas-verdes (*Iguana iguana*) jovens. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2016, Curitiba. **Anais...** 2016, p. 86.
- BRINKHOUS, K. M. et al. Botrocetin (venom coagglutinin): reaction with a broad spectrum of multimeric forms of factor VIII macromolecular complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 80, n. 5, p. 1463-1466, 1983.
- BRONDANI, J.T.; LUNA, S.P.L.; PADOVANI, C.R. Refinement and initial validation of a multidimensional composite scale for use in assessing acute postoperative pain in cats. **American journal of veterinary research**, v. 72, n. 2, p. 174-183, 2011.
- BROWN, R.E.; COREY, S.C.; MOORE, A.K. Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. **Behavior genetics**, v. 29, n. 4, p. 263-271, 1999.
- BULL, C. M. et al. Recognition of pheromones from group members in a gregarious lizard, *Egernia stokesii*. **Journal of Herpetology**, p. 92-99, 2000
- BURGESS, J.W. Measurement of spatial behavior: methodology applied to rhesus monkeys, neon tetras, communal and solitary spiders, cockroaches, and gnats in open fields. **Behavioral and Neural Biology**, v. 26, n. 2, p. 132-160, 1979.
- BURGHARDT, G.M.; GREENE, H.W.; RAND, A. Stanley. Social behavior in hatchling green iguanas: life at a reptile rookery. **Science**, v. 195, n. 4279, p. 689-691, 1977.
- BURGHARDT, G.M.; RAND, A.S. Group size and growth rate in hatchling green iguanas (*Iguana iguana*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 18, n. 2, p. 101-104, 1985.
- CARREGARO, A.B., et al. Influência da temperatura corporal de cascavéis (*Crotalus durissus*) submetidas à anestesia com cetamina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.12, p. 969 -973, 2009.
- CARVALHO, A.L.G.; ARAÚJO, A.F.B. Ecologia dos lagartos da Ilha da Marambaia, RJ. **Rev Univ Rural EDUR (Série Ciências da Vida, Seropédica)(Rio J)**, v. 24, n. 2, p. 159-165, 2004.
- CASTAGNÉ, V. et al. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. **Curr Protoc Neurosci**, v. 55, n. 8.10, p. 11-18.10, 2011.

- CASTRO, E.R.; GALETTI, M. Frugivoria e dispersão de sementes pelo lagarto teiú *Tupinambis merianae* (Reptilia: Teiidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 44, n. 6, p. 91-97, 2004.
- CHEN, L. et al. Novel insights into the behavioral analysis of mice subjected to the forced-swim test. **Translational psychiatry**, v. 5, n. 4, p. e551, 2015.
- CHESLER, E.J. et al. Influences of laboratory environment on behavior. **Nature neuroscience**, v. 5, n. 11, p. 1101-1102, 2002
- CHRISTIAN, K. A., et al. Energetic consequences of metabolic depression in tropical and temperate-zone lizards. **Australian Journal of Zoology**, v.47, n.2, p.133-141, 1999.
- CHISZAR, D.; CARTER, T. Reliability of individual differences between garter snakes (*Thamnophis radix*) during repeated exposures to an open field. **Bulletin of the Psychonomic Society**, v.5, n.6, p.507-509, 1975.
- CHISZAR, D. et al. Investigatory behavior in the plains garter snake (*Thamnophis radix*) and several additional species. **Animal Learning & Behavior**, v.4, n.3, p.273-278, 1976.
- CHOLERIS, E. et al. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, n. 3, p. 235-260, 2001.
- CRAIN, D.A.; GUILLETTE, L.J. Reptiles as models of contaminant-induced endocrine disruption. **Animal reproduction science**, v. 53, n. 1, p. 77-86, 1998.
- CRAWLEY, J.N. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 15, n. 5, p. 695-699, 1981.
- CRYAN, J.F.; MOMBÉREAU, C. In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. **Molecular psychiatry**, v. 9, n. 4, p. 326-357, 2004.
- DETKE, M.J.; LUCKI, I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. **Behavioural brain research**, v. 73, n. 1, p. 43-46, 1995.
- DIAS, E.J.R.; ROCHA, C.F.D. Thermal ecology, activity patterns and microhabitat use by two sympatric whiptail lizards (*Cnemidophorus abaetensis* and *Cnemidophorus ocellifer*) from Northeastern Brazil. **Journal of Herpetology**, v.38, n.4, p.586-588, 2004.
- DIETHELM, G.; STEIN, G. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In MADER, D.R. (Ed.) **Reptile medicine and surgery**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. p. 1103-1118.
- DIVERS, S.J. Basic reptile husbandry, history taking and clinical examination. **In Practice**, v.18, n.2, p.51-65, 1996.
- DIVERS, S.J. Clinical evaluation of reptiles. The veterinary clinics of North America. **Exotic animal practice**, v.2, n.2, p.291-331, 1999.
- DUBOCOVICH, M.L.; MOGILNICKA, E.; ARESO, P.M. Antidepressant-like activity of the melatonin receptor antagonist, luzindole (N-0774), in the mouse behavioral despair test. **European journal of pharmacology**, v. 182, n. 2, p. 313-325, 1990.
- DUFFIELD, G.A.; BULL, M.C. Stable social aggregations in an Australian lizard, *Egernia stokesii*. **Naturwissenschaften**, v. 89, n. 9, p. 424-427, 2002
- EMBERT, D.; FITZGERALD, L.; WALDEZ, F. *Salvator merianae*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T178340A7526681. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T178340A7526681.en>. 2010. Downloaded on 01 October 2015
- ETHERIDGE, R. E. Checklist of the iguanine and Malagasy iguanid lizards. In: BURGHARDT, G. M.; RAND, A.S. (eds.) **Iguanas of the World: Their Behavior, Ecology, and Conservation**. Noyes, Park Ridge, p. 7-37, 1982.

- FALCON, E. et al. Effects of buprenorphine on behavioral tests for antidepressant and anxiolytic drugs in mice. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 5, p. 907-915, 2015.
- FALCON, E. et al. Antidepressant-like Effects of Buprenorphine are Mediated by Kappa Opioid Receptors. **Neuropsychopharmacology**, 2016.
- FALCÓN, W. et al. Biology and Impacts of Pacific Island Invasive Species. 10. Iguana iguana, the Green Iguana (Squamata: Iguanidae) 1. **Pacific Science**, v. 67, n. 2, p. 157-186, 2013.
- FLEMING G. J.; ROBERTSON S. A. Use of thermal threshold test response to evaluate the antinociceptive effects of butorfanol in juvenile green iguanas (*Iguana iguana*). **Annual Conference American Association Zoo Veterinarians**, Tampa, FL, p-297-280, 2006.
- FOÀ, A. et al. Seasonal changes of locomotor activity patterns in ruin lizards *Podarcis sicula*. I. Endogenous control by the circadian system. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.34, n.4, p. 267-274, 1994.
- FRYE, C.A.; WALF, A.A. Changes in progesterone metabolites in the hippocampus can modulate open field and forced swim test behavior of proestrous rats. **Hormones and Behavior**, v. 41, n. 3, p. 306-315, 2002.
- GALLUP, G.G.; SUAREZ, S.D. An ethological analysis of open-field behaviour in chickens. **Animal Behaviour**, v. 28, n. 2, p. 368-378, 1980.
- GIROUD, S. et al. Chronic food shortage and seasonal modulations of daily torpor and locomotor activity in the grey mouse lemur (*Microcebus murinus*). **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.294, n.6, p.R1958-R1967, 2008.
- GRAVES, B.M.; DUVALL, D. Aggregation of squamate reptiles associated with gestation, oviposition, and parturition. **Herpetological Monographs**, p. 102-119, 1995.
- GREGORY, R.T. Reptilian hibernation. In: GANS, C.; POUGH, F. H. (Eds). **Biology of the Reptilia**. v.13. London: Academic Press, p. 53-154, 1982.
- GOULART, C.E.S. Ordem Squamata – Subordem Sauria (Lagarto, Teiú, Iguana). In: CUBAS, Z.S. et al. (eds.) **Tratado de Animais Selvagens**. São Paulo: Roca, p.58 – 67, 2007
- GOULD, T.D.; DAO, D.T.; KOVACSICS, C.E. The open field test. **Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests**, p. 1-20, 2009.
- GOVENDER, Y. et al. An isotopic study of diet and muscles of the green iguana (*Iguana iguana*) in Puerto Rico. **Journal of Herpetology**, v. 46, n. 2, p. 167-170, 2012.
- HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v.18, n.3, p.385-403, 1934.
- HALL, R. J.; HENRY, P. F. P. Assessing effects of pesticides on amphibians and reptiles: status and needs. **Herpetological Journal**, v. 2, p. 65-71, 1992.
- HAMM, R.J. et al. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. **Journal of neurotrauma**, v. 11, n. 2, p. 187-196, 1994.
- HÅNELL, A.; MARKLUND, N. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 8, p. 252, 2014.
- HATANO, F.H. et al. Thermal ecology and activity patterns of the lizard community of the restinga Jurubatiba, Macaé, RJ. **Revista Brasileira de Biologia**, v.61, n.2, p.287-294, 2001.
- HARGREAVES, K. et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. **Pain**, v. 32, n. 1, p. 77-88, 1988.
- HARVEY, M.B. et al. Review of teiid morphology with revised taxonomy and phylogeny of the teiidae (Lepidosauria: Squamata). **Zootaxa**, v.3459, n.1, p.156, 2012.

- HAZIM, A.I. et al. Anxiolytic-like effects of mitragynine in the open-field and elevated plus-maze tests in rats. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 64, n. 3, p. 161-169, 2014.
- HEATWOLE, H.F.; TAYLOR, J. **Ecology of Reptiles**. Sydney: Surrey Beatty & Sons PTY Limited, 1987.
- HEIDERSTADT, K. M. et al. The effect of chronic food and water restriction on open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats. **Laboratory animals**, v. 34, n. 1, p. 20-28, 2000.
- HERZOG, H. A.; BURGHARDT, G. M. Development of antipredator responses in snakes: I. Defensive and open-field behaviors in newborns and adults of three species of garter snakes (*Thamnophis melanogaster*, *T. sirtalis*, *T. butleri*). **Journal of Comparative Psychology**, v.100, n.4, p.372 -379, 1986.
- HOLTON, L. et al. Development of a behaviour-based scale to measure acute pain in dogs. **The Veterinary Record**, v.148, n.17, p.525-531, 2001.
- HUA, Y. et al. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat. **Stroke**, v. 33, n. 10, p. 2478-2484, 2002.
- HUANG, T. F. et al. Trigramin. A low molecular weight peptide inhibiting fibrinogen interaction with platelet receptors expressed on glycoprotein IIb-IIIa complex. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 33, p. 16157-16163, 1987.
- HUEY, R.B. Temperature, physiology and the ecology of reptiles. In: GANS, C.; POUGH, F.A. (Eds). **Biology of the reptilia**. Physiological Ecology. Vol. 12. New York: Academic Press, p. 25-91, 1982.
- HUEY, R.B. et al. Seasonal variation in thermoregulatory behavior and body temperature of diurnal kalahari lizards. **Ecology**, v.58, p. 1066-1075, 1977.
- HUTCHINSON, V.H.; LARIMER, J.L. Reflectivity of the integuments of some lizards from different habitats. **Ecology**, v. 41, n. 1, p. 199-209, 1960.
- HUXLEY, T.H.; MITCHEL, P.C. Amphibia. **Encyclopedia Britannica**, 11ed. 1911.
- INNOCENTI, A. et al. Seasonal changes of locomotor activity patterns in ruin lizards *Podarcis sicula*. II. Involvement of the pial. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.35, n.1, p. 27-33, 1994.
- IVERSON, J. B. Adaptations to herbivory in iguanine lizards. In: BURGHARDT, G. M.; RAND, A.S. (eds.) **Iguanas of the World: Their Behavior, Ecology, and Conservation**. Noyes, Park Ridge, p. 60-76, 1982.
- JANES D.E. et al. Genome evolution in Reptilia, the sister group of mammals. **Annu Rev Genomics Hum Genet**. v. 11, p. 239-264, 2010.
- KANCIRUK, P.; HERRNKIND, W.F. Preliminary investigations of the daily and seasonal locomotor activity rhythms of the spiny lobster, *Panulirus argus*. **Marine & Freshwater Behaviour & Physiology**, v.1, n. 1-4, p.351-359, 1972.
- KELLIHER, P. et al. Varying responses to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. **Physiology & behavior**, v. 69, n. 4, p. 531-539, 2000.
- KIEFER, M.C., SAZIMA, I. Diet of juvenile tegu lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae) southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**. v. 23, p. 105-108, 2002.
- KIM, J. et al. A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. **Science**, v. 317, n. 5842, p. 1220-1224, 2007.
- KLEIN, W. et al. Metabolic response to feeding in *Tupinambis merianae*: circadian rhythm and a possible respiratory constraint. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 79, n. 3, p. 593-601, 2006.
- LAVELLE. P. et al. Nutrient cycling. In: HASSAN, R.; SCHOLE, R.; ASH, N. (eds) **Ecosystems and human well-being: current state and trends, Vol. 1. Findings of the**

condition and trends working group of the millennium ecosystem assessment. Washington (DC): Island Press; p. 333–351, 2005.

LICHTENBELT, W.D.M. Optimal foraging of a herbivorous lizard, the green iguana in a seasonal environment. **Oecologia**, v.95, n.2, p.246-256, 1993.

LINNÉR, J. et al. Diel and seasonal locomotor activity patterns in Arctic charr, *Salvelinn alpinus* (L.). **Journal of Fish Biology**, v.37, n.5, p.675–685, 1990.

LOPES, H.R.; ABE, A.S. Biologia reprodutiva e comportamento do teiú, *Tupinambis merianae*, em cativeiro (Reptilia, Teiidae). In FANG, T.G.; MONTENEGRO, O.L.; BODMER, R.E. (eds). **Manejo y Conservación de Fauna Silvestre en América Latina.** Instituto de Ecología, La Paz, Bolivia. p. 259–272, 1999.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behavioural pharmacology**, v. 8, n. 6-7, p. 523-532, 1997.

MARINEROS, L.E. El consumo de anfibios y reptiles entre los maya chortí de Copán. **Yaxkin**. XXIII:183–193. 2007.

MATAQUEIRO, M. I. et al. Comparative study of the sedative and antinociceptive effects of levomepromazine, azaperone and midazolam in laboratory animals. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.340-345, 2004.

MAYER, J.; BAYS, T.B. Comportamento de Répteis. In: BAYS, T.B. et al. (Eds.) **Comportamento de Animais Exóticos de Companhia: aves, répteis e mamíferos de pequeno porte.** São Paulo: Roca, p. 89–139, 2009.

MAYHEW, W.W. Hibernation in the horned lizard, *Phrynosoma m'calli*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.16, n.1, p.103-119, 1965.

MEDEM, F. **Los Crocodylia de Sur América.** Vol. 2. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia–Colciencias. 1983.

MELO, C.F.; BRESSAN, T.F.; LEAL, W.P.; BISETTO, S.P.; CARREGARO, A.B. Efeito antinociceptivo da morfina e do butorfanol em teiús (*Salvator merianae*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2016, Curitiba. **Anais...** 2016, p. 64.

MENENDEZ, L. et al. Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. **Journal of neuroscience methods**, v. 113, n. 1, p. 91-97, 2002.

MENEZES, V.A. et al. Termorregulação no lagarto partenogenético *Cnemidophorus natio* (Teiidae) em uma área de restinga do nordeste do Brasil. **Revista de Etologia**, v.2, n.2, p.103-109, 2000.

MILL, J. et al. Home-cage activity in heterogeneous stock (HS) mice as a model of baseline activity. **Genes, Brain and Behavior**, v. 1, n. 3, p. 166-173, 2002.

MILSOM, W.K. et al. Seasonal changes in daily metabolic patterns of tegu lizards (*Tupinambis merianae*) placed in the cold (17°C) and dark. **Physiological and Biochemistry Zoology**, v.81, n.2, p.165-175, 2008.

MOSLEY, C. A. E. Anesthesia and Analgesia in Reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v.14, n.4, p.243-262, 2005.

MOSLEY, C. Pain and nociception in reptiles. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.14, n.1, p.45-60, 2011.

MOURA, A.C.A. et al. Can green iguanas compensate for vanishing seed dispersers in the Atlantic forest fragments of north-east Brazil?. **Journal of Zoology**, v. 295, n. 3, p. 189-196, 2015.

MURRELL, J.C. et al. Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. **The Veterinary Record**, v. 162, n. 13, p. 403-408, 2008.

- MUSIC, M.K.; STRUNK, A. Reptile Critical Care and Common Emergencies. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 19, n. 2, p. 591-612, 2016.
- NOMURA, T. et al. Reptiles: A New Model for Brain Evo-Devo Research. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 320, n. 2, p. 57-73, 2013.
- OLIVEIRA, F.A. et al. Validation of the UNESP-Botucatu unidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cattle. **BMC veterinary research**, v. 10, n. 1, p. 200, 2014.
- O'MALLEY, B. General Anatomy and physiology of reptiles. In: _____ (Ed.) **Clinical anatomy and physiology of exotic species**. London: Elsevier. p. 17-39, 2005.
- PÉRES JR., A.K. **Teiid lizards of the genus Tupinambis: taxonomic notes, geographic review, and a key to the species**. 2003. 192p. Tese (Doutorado), Universidade de Brasília, DF, Brasil, 2003.
- PETERS, H. **La iguana verde (*Iguana iguana*) potenciali-ades para su manejo**. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Documento Técnico – Proyecto FAO/PNUMA (FAO), 1993.
- PETIT-DEMOULIERE, B.; CHENU, F.; BOURIN, M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacology**, v. 177, n. 3, p. 245-255, 2005.
- POLETTA, G.L. et al. Reptiles as Animal Models: Examples of Their Utility in Genetics, Immunology and Toxicology. In: LUTTERSCHMIDT, W. (Ed.) **Reptiles in Research: Investigations of Ecology, Physiology and Behavior from Desert to Sea**, New York: Nova Science Publishers, p.407-445, 2013.
- PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie**, v. 229, n. 2, p. 327-336, 1977.
- POUGH, F.H.; HEISER, J.B.; JANIS, C.M. **A Vida dos Vertebrados**, 4ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
- PRESTRIDGE, H.L.; FITZGERALD, L.A.; HIBBITTS, T.J. Trade in non-native amphibians and reptiles in Texas: lessons for better monitoring and implications for species introduction. **Herpetol Conserv Biol**. v. 6, p. 324–339, 2011.
- PRITCHETT, L.C. et al. Identification of potential physiological and behavioral indicators of postoperative pain in horses after exploratory celiotomy for colic. **Applied Animal Behaviour Science**, v.80, n.1, p.31-43, 2003.
- PRUTT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v.463, n.1, p.3-33, 2003.
- RAAB, A. et al. Behavioural, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. **Physiology & behavior**, v. 36, n. 2, p. 223-228, 1986.
- RAND, A.S. et al. Home range in green iguanas (*Iguana iguana*) in Panama. **Copeia**. v. 1, p. 217-221, 1989.
- RAND, M.S. Selection of biomedical animal models. In: **Sourcebook of models for biomedical research**. Humana Press, p. 9-15, 2008.
- READ, M.R. Evaluation of the use of anesthesia and analgesia in reptiles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 4, p. 547-552, 2004.
- RIBAS, E.R. **Variação sazonal da temperatura corpórea no lagarto Teiú, *Tupinambis merianae* (Squamata, Lacertilia, Teiidae)**. 2005. 62p. Dissertação (Mestrado). UNESP, SP, Brasil. 2005.
- RIVERO, R.D. **The amphibians and reptiles of Puerto Rico**. 2ed. San Juan: Editorial de la Universidad de Puerto Rico, 1998.

- ROBINSON, J.E. et al. Dynamics of the global trade in live reptiles: Shifting trends in production and consequences for sustainability. **Biological Conservation**, v. 184, p. 42-50, 2015.
- SALAT, K. et al. Antidepressant-like effects of ketamine, norketamine and dehydronorketamine in forced swim test: role of activity at NMDA receptor. **Neuropharmacology**, v. 99, p. 301-307, 2015.
- SANTOS, G.G.L. et al. Antinociceptive properties of *Micrurus lemniscatus* venom. **Toxicon**, v. 60, n. 6, p. 1005-1012, 2012.
- SASAKI, M. et al. Effects of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors on the modulation of nociceptive transmission in rat spinal cord according to the formalin test. **European journal of pharmacology**, v. 424, n. 1, p. 45-52, 2001.
- SAZIMA, I.; D'ANGELO, G.B. Range of animal food types recorded for the tegu lizard (*Salvator merianae*) at an urban park in South-eastern Brazil. **Herpetology Notes**. v. 6, p. 427-430, 2013.
- SÁZIMA, I.; HADDAD, C.F.B.; MORELLATO, L. P. C. Répteis da Serra do Japi: notas sobre história natural. **História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**, p. 28-49, 1992.
- SCHELLINCK, H.M.; CYR, D.P.; BROWN, R.E. How many ways can mouse behavioral experiments go wrong? Confounding variables in mouse models of neurodegenerative diseases and how to control them. **Advances in the Study of Behavior**, v. 41, p. 255-366, 2010.
- SCHNEIDER, L. et al. Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. In: KIM, K.H.; BROWN, R.J.C. Mercury: Sources, Applications and Health Impacts. New York: Nova Science Publishers, Inc., p. 173-232, 2013.
- SHACHAM, B.; NEMTZOV, S.C. Records of feral green iguana, *Iguana iguana*, in Israel. **Applied Herpetology**, v. 5, n. 1, p. 99-99, 2008.
- SHUTTLEWORTH, C. **Ecological relationships between the armadillo lizard, *Cordylus cataphractus*, and the southern harvester termite, *Microhodotermes viator***. Tese de Doutorado. Stellenbosch: University of Stellenbosch. 2006.
- SOBREIRA, T.; BRESSAN, T.F.; CARREGARO, A.B. Aplicabilidade de testes comportamentais para análise de sedação em iguanas-verdes (*Iguana iguana*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2016, Curitiba. **Anais...** 2016, p. 61.
- SRINIVASAN, K. et al. Antinociceptive and antipyretic activities of *Pongamia pinnata* leaves. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 3, p. 259-264, 2003.
- SILVA, J.C.; BARROS, R.F.; PENATTI, C.A.A. Paradigmas comportamentais de experimentação em roedores: em busca do entendimento das interações sociais na ansiedade. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 3, n. 1, p. 7-15, 2015.
- SLADKY, K. K. et al. Analgesic efficacy and respiratory effects of butorphanol and morphine in turtles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.230, n.9, p.1356-1362, 2007.
- SLADKY, K. et al. Analgesic efficacy of butorphanol and morphine in bearded dragons and corn snakes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.233, n.2, p.267-273, 2008.
- SLADKY, K.K.; KINNEY, M.E.; JOHNSON, S.M. Analgesic efficacy of butorphanol and morphine in bearded dragons and corn snakes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, n. 2, p. 267-273, 2008.

- SLADKY, K.K.; KINNEY, M.E.; JOHNSON, S.M. Effects of opioid receptor activation on thermal antinociception in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*). **American journal of veterinary research**, v. 70, n. 9, p. 1072-1078, 2009.
- SLADKY, K. K.; MANS, C. Clinical Analgesia in Reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.21, n.2, p.158-167, 2012.
- SLATTERY, D.A.; CRYAN, J.F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature protocols**, v. 7, n. 6, p. 1009-1014, 2012.
- SMITH, L.C.; JOHN-ALDER, H.B. Seasonal specificity of hormonal, behavioral, and coloration responses to within-and between-sex encounters in male lizards (*Sceloporus undulatus*). **Hormones and Behavior**, v. 36, n. 1, p. 39-52, 1999.
- SOUZA, S.C.R. et al. Seasonal metabolic depression, substrate utilization and changes in scaling patterns during the first year cycle of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). **Journal of Experimental Biology**, v.207, n.2, p.307-318, 2004.
- STANFORD, S.C. The open field test: reinventing the wheel. **Journal of psychopharmacology**, v. 21, n. 2, p. 134-136, 2007.
- STOREY, K. B. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v.133, n.3, p.733-754, 2002.
- SWANSON, P.L. The iguana *Iguana iguana* (L). **Herpetologica**, v. 6, n. 7, p. 187-193, 1950.
- TALTAVULL, J.F. et al. Severe brain hypothermia as a factor underlying behavioral immobility during cold-water forced swim. **Brain research**, v. 975, n. 1, p. 244-247, 2003.
- TEIXEIRA-FILHO, P.F. et al. Aspectos da ecologia termal e uso do hábitat por *Cnemidophorus ocellifer* (Sauria: Teiidae) na restinga de Barra de Maricá, RJ. **Oecologia Brasiliensis**, v.1, n.1, p.155-165, 1995.
- TATTERSALL, G.J. et al. Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards. **Science advances**, v. 2, n. 1, p. e1500951, 2016.
- TEN DONKELAAR, H. J.; DE BOERVAN HUIZEN, R. B. A possible pain control system in a non-mammalian vertebrate (a lizard, Gekko gecko). **Neuroscience Letters**, v. 83, p. 65-70, 1987.
- THOMAS, N. et al. Iguana iguana-a feral population in Fiji. **Oryx**, v. 45, n. 3, p. 321-322. 2011.
- TOLEDO, L.F. et al. Effects of season, temperature, and body mass on the standard metabolic rate of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). **Physiological and Biochemical Zoology**, v.81, n.2, p.158-164, 2008.
- TOWNSEND, T.M. et al. Rapid development of multiple nuclear loci for phylogenetic analysis using genomic resources: an example from squamate reptiles. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 47, n. 1, p. 129-142, 2008.
- TOWNSEND, J. H. et al. Predation of a tree snail *Drymaeus multilineatus* (Gastropoda: Bulimulidae) by *Iguana iguana* (Reptilia: Iguanidae) on Key Biscayne, Florida. **Southeastern Naturalist**. v. 4, n. 2, p. 361-364, 2005.
- TOWNSEND, J.H.; KRYSKO, K.L.; ENGE, K.M. Introduced iguanas in southern Florida: A history of more than 35 years. **Iguana**, v. 10, n. 4, p. 111-118, 2003.
- TRIPLITT, C.; CHIQUETTE, E. Exenatide: from the Gila monster to the pharmacy. **Japha-Washington**, v. 46, n. 1, p. 44, 2006.
- UNDERWOOD, H. Circadian organization in the lizard *Anolis carolinensis*: a multioscillator system. **Journal of Comparative Physiology**, v.152, n.2, p.265-274, 1983.

- VALENCIA-AGUILAR, A.T.; CORTÉS-GÓMEZ, A.M.; RUIZ-AGUDELO, C.A. Ecosystem services provided by amphibians and reptiles in Neotropical ecosystems. **International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management**, v. 9, n. 3, p. 257-272, 2013.
- VALIDO, A.; OLESEN, J.M. The importance of lizards as frugivores and seed dispersers. In: DENNIS, A.J.; SCHUPP, E.W.; GREEN, R.A.; WESTCOTT, D.A. editors. Seed dispersal: theory and its application in a changing world. **Wallingford**: CABI; p. 124–147, 2007.
- VAN SLUYS, M. Aspectos da ecologia do lagarto *Tropidurus itambere* (Iguanidae) em uma área do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v.52, n.1 p.181-185, 1992.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R.A; The open field test: a critical review. **Psychology Bulletin**, v.83, n.3, p.481–504, 1976.
- WAMBUGU, S. N. et al. Effects of opioids in the formalina test in the Speke's hinged tortoise (*Kinixys spekii*). **Journal Veterinary Pharmacology Therapeutics**, v.33, p.347-351, 2010.
- WARNER, A. et al. Effects of photoperiod on daily locomotor activity, energy expenditure, and feeding behavior in a seasonal mammal. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.298, n.5, p.1409-1416, 2010.
- WERNECK, F.P.; COLLI, G.R. The lizard assemblage from Seasonally Dry Tropical Forest enclaves in the Cerrado biome, Brazil, and its association with the Pleistocenic Arc. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 11, p. 1983-1992, 2006.
- WEST, A. P. Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 14, n. 6, p. 863-IN4, 1990.
- WHITE, S.D. et al. Reptiles with dermatological lesions: a retrospective study of 301 cases at two university veterinary teaching hospitals (1992–2008). **Veterinary dermatology**, v. 22, n. 2, p. 150-161, 2011.
- WHITE, D.A.; KALINICHEV, M.; HOLTZMAN, S.G. Locomotor response to novelty as a predictor of reactivity to aversive stimuli in the rat. **Brain research**, v. 1149, p. 141-148, 2007.
- WINCK, G.R.; BLANCO, C.C.; CECHIN, S.Z. Population ecology of Tupinambis merianae (Squamata, Teiidae): home-range, activity and space use. **Animal Biology**, v. 61, n. 4, p. 493-510, 2011.
- WOLZ-RICHTER, S.; ESSER, K.-H.; HESS, A. Antinociceptive activity of crotoxin in the central nervous system: A functional Magnetic Resonance Imaging study. **Toxicon**, v. 74, p. 44-55, 2013.
- WOOD, M.D. et al. Radionuclide transfer to reptiles. **Radiation and environmental biophysics**, v. 49, n. 4, p. 509-530, 2010.
- YANOSKY, A.A.; MERCOLLI, C. Supression of dormancy in tegu lizards (*Tupinambis teguixin*) culture at El Bagual ecological reserve, Argentine Republic. **Archivos de Zootecnia**, v.42, p.3–12, 1993.
- ZALUAR, H.L.T.; ROCHA, C.F.D. Ecology of the wide-foraging lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) in a sand dune habitat of southeast Brazil: ontogenetic, sexual and seasonal trends in food habits, activity, thermal ecology and microhabitat use. **Ciência e Cultura**, v.52, n.2, p.101-107, 2000.