

# **Daniel Rodrigues Stuginski**

“Taxas metabólicas de repouso e pós-prandiais em  
serpentes do gênero *Bothrops*, com ênfase nos  
aspectos ontogenéticos e filogenéticos  
(Crotalinae)”.

“Standard metabolic rates and specific dynamic  
action in *Bothrops*, with emphasis on ontogenetic  
and phylogenetic features (Crotalinae)”.

São Paulo, 13 de março

2014

# Daniel Rodrigues Stuginski

“Taxas metabólicas de repouso e pós-prandiais em serpentes do gênero *Bothrops*, com ênfase nos aspectos ontogenéticos e filogenéticos (Crotalinae)”.

“Standard metabolic rates and specific dynamic action in *Bothrops*, with emphasis on ontogenetic and phylogenetic features (Crotalinae)”.

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências, na Área de Fisiologia Geral.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Pereira Wilken Bicudo  
Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

São Paulo

2014

## Ficha Catalográfica

---

Stuginski, Daniel Rodrigues  
Taxas metabólicas de repouso e pós-prandiais em serpentes do gênero *Bothrops*, com ênfase nos aspectos ontogenéticos e filogenéticos  
(Crotalinae) / Daniel Rodrigues Stuginski ; orientador José Eduardo Pereira Wilken Bicudo. -- São Paulo, 2014.  
153 f.  
Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Fisiologia.

1. Serpentes. 2. Metabolismo. 3. Digestão. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Fisiologia.  
II. Título.

### Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Orientador

## Dedicatória

---

Em memória da minha amada irmã caçula Tatiana Rodrigues Stuginski, que esteve comigo no início desta jornada, mas que infelizmente não pôde acompanhar seu desfecho.

*. –Tati, você foi o maior exemplo de força, perseverança e fé na vida que eu poderia ter tido. Obrigado por cada momento que compartilhamos e por iluminar a minha vida. Gostaria de poder te dedicar uma bela canção ou um poema digno, mas infelizmente não sou bom em nada disso. Assim sendo, te dedico este humilde manuscrito, que é simples demais para lhe fazer jus, mas que foi confeccionado com muito carinho. Sinto sua falta todos os dias da minha vida.*

*Do seu irmão que sempre te amará.*

*D.*

*“Take a sad song and make it better.  
Remember to let her into your heart  
Then you can start to make it better”.*

Hey Jude (The Beatles)



## Agradecimentos

---

Agradeço imensamente:

À Fapesp pela concessão da bolsa e custeio de parte deste projeto.

Ao meu Orientador Prof. Dr. José Eduardo Pereira Wilken Bicudo, por toda confiança, paciência, suporte e ajuda oferecida ao longo destes anos.

Ao meu coorientador Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho, sem o qual este trabalho não teria sequer começado. Obrigado por me orientar, apoiar, acreditar em mim, me cobrar e me ajudar em absolutamente todos os aspectos necessários para a conclusão desta tese.

Ao Prof. Dr. Carlos Arturo Navas Iannini sem o qual esta tese não poderia ser realizada; por permitir que eu utilizasse todos os equipamentos, recursos disponíveis e realizasse os experimentos em suas dependências.

Agradeço principalmente, por tratar-me como parte de sua equipe, fazer com que eu me sentisse tão bem em seu laboratório e por toda a gentileza que teve comigo diante de todos os percalços deste doutorado.

Ao Wilson Fernandes, meu ex-chefe e amigo, que permitiu e estimulou-me a realizar mais este sonho, cedendo-me gentilmente não só os animais

necessários como também o tempo que necessitei, sem nunca me negar nada.

À Dra. Kathleen Fernandes Grego, minha chefe, colaboradora e amiga que permitiu que eu dedicasse o tempo necessário para a realização deste trabalho, que gentilmente me cedeu os animais, que me ajudou em inumeráveis aspectos e sempre me estimulou a trilhar o caminho da ciência.

Ao Pesquisador científico Sávio Stefanini Sant'Anna por todo o auxílio e amizade ao longo de todos estes anos de convivência; por todas as discussões importantes a respeito do trabalho, pela ajuda na edição das imagens, nos pacotes estatísticos e nas minhas responsabilidades profissionais. Por acreditar em mim e me estimular a seguir em frente.

Ao Dr. Agustín Camacho Guerrero, meu amigo e colaborador sem o qual boa parte deste trabalho não poderia ter sido realizada. Por toda a ajuda nas análises filogenéticas e paciência que teve comigo nestes últimos meses.

Aos Professores Dr. Fernando Ribeiro Gomes e Márcio Reis Custódio pelas dicas dadas durante o exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. José Guilherme Chauí-Berlinck pelas conversas, aulas e ajuda na interpretação dos resultados estatísticos.

À Roseli Silva Santos por toda ajuda e por sempre salvar a minha pele.

À toda equipe da secretaria da pós-graduação do IB (Elder, Érica, Lilian...) por também salvarem a minha pele com bastante frequência.

À todos os professores da pós-graduação do IB por terem propiciado excelentes aulas e contribuído substancialmente para minha formação.

À Dra Tatiana Kawamoto por me ensinar a “respirometrar”, por sua paciência e dedicação.

À Dra Karen de Moraes Zani por ter tão prontamente me ajudado na confecção de minhas referências.

Ao Jarbas Videiros, por toda a ajuda com as fotografias.

Ao Dr. Richard Shine, por enviar-me tão prontamente alguns dos artigos que necessitei.

À todos os meus amigos e colegas do laboratório de ecofisiologia por me ajudarem e me deixarem fazer parte desta equipe tão especial (em especial



agradeço a Lye, Bel, Inés e Toninho, que me ajudaram com sugestões e conversas).

À todos os meus amigos e colegas do laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, com os quais convivo a muitos anos e sem os quais este trabalho não poderia ser realizado. Em especial agradeço ao Diego Rugno por toda a ajuda, Cinthia, Renato e Bruno por gentilmente me cederem os animais de suas salas, Diego Rubio, Guilherme e Gustavo por assumirem o trabalho do serpentário.

Aos meus amigos de maneira geral, por fazerem parte da minha vida.

Ao meu pai Luis Antônio Stuginski e sua esposa Ruth por todo suporte, incentivo e disposição para me ajudarem.

Ao Jaber Amad, por toda a ajuda que dedicou a minha mãe e irmã nestes anos tão conturbados.

Ao meu irmão Cristiano Rodrigues Stuginski, por ser um ótimo irmão e sempre me divertir.

À minha irmã Tatiana Stuginski, meu anjo, por tudo o que fez por mim em sua vida.

À minha mãe Maria Izabel Rodrigues, por ter me criado com tanto amor, ter me dado educação e sempre ter acreditado em meus sonhos. Além de ser a melhor mãe do mundo.

Às minhas cachorras Bisteka e Paçoca, por tornarem minha vida tão mais feliz e divertida.

À minha esposa, amiga, parceira e colaboradora Ana Helena Pagotto Stuginski, por toda dedicação, amor e paciência que teve comigo ao longo destes anos. Por me tornar uma pessoa melhor e permitir que eu compartilhe de seu amor, de sua vida e de seus sonhos.

A Deus, por ter colocado tantas pessoas especiais na minha vida.

# Índice

---

Abreviaturas.....	13
Resumo Geral.....	14
Abstract.....	15
<b>Capítulo 1: Introdução Geral.....</b>	<b>16</b>
Aspectos Gerais do Estudo do Metabolismo Energético.....	16
Emprego da ponderação filogenética nos estudos de fisiologia comparativa.....	19
Metabolismo Energético em Serpentes.....	21
As serpentes do gênero <i>Bothrops</i> como sistemas-modelo para o estudo dos padrões evolutivos das taxas metabólicas.....	28
Respirometria.....	34
Referências Bibliográficas.....	41
<b>Capítulo 2: Efeitos da Ocupação de Diferentes Ambientes, da Ontogenia e do Hábito Alimentar Sobre as Taxas Metabólicas de Serpentes do Gênero <i>Bothrops</i> (Crotalinae), com Especial Ênfase Sobre as Relações Filogenéticas.....</b>	<b>48</b>
Resumo.....	48
<i>Abstract</i> .....	49
Introdução.....	50
Materiais e Métodos.....	55
Resultados.....	65

Discussão.....	67
Referências Bibliográficas.....	84
<b>Capítulo 3: Aumento da taxa metabólica durante o período pós-prandial em 5</b>	
<b>espécies de serpentes do gênero <i>Bothrops</i> (Crotalinae: Viperidae).....</b>	<b>89</b>
Resumo.....	89
<i>Abstract</i> .....	90
Introdução.....	91
Materiais e Métodos.....	95
Resultados.....	99
Discussão.....	104
Referências Bibliográficas.....	115
<b>Capítulo 4: Discussão Geral e Considerações finais.....</b>	<b>119</b>
Referências Bibliográficas.....	130

## Abreviações

- AMPP**: Aumento metabólico pós-prandial, referente ao aumento da taxa metabólica acima dos valores da taxa metabólica de repouso durante o processo digestório.
- ATP**: Adenosina trifosfato.
- E<sub>AMPP</sub>%**: porcentagem do conteúdo energético da ingesta que é dispendida durante a AMPP.
- EM**: Escopo metabólico, calculado dividindo-se o valor máximo do **AMPP** (pico) pelo valor da taxa metabólica de repouso padrão (**TMRP**).
- F<sub>e</sub>O<sub>2</sub>**: fração de oxigênio na entrada do sistema.
- F<sub>s</sub>O<sub>2</sub>**: a fração de oxigênio na saída do sistema.
- Kcal**: quilocaloria.
- Kj**: quilojoule.
- M**: massa corpórea.
- Q<sub>10</sub>**: Coeficiente de temperatura.  $Q_{10} = (R_2/R_1)^{10/(T_2-T_1)}$ , aonde R2 é a medida realizada na temperatura T2 e R1 é a medida realizada na temperatura T1.
- TMR**: taxa metabólica de repouso, medida realizada durante o repouso no período normal de atividade dos animais (p. ex. medida feita durante o repouso no período de fotofase de um animal diurno).
- TMRP**: taxa metabólica de repouso padrão, medida realizada durante o repouso no período normal de atividade dos animais (p. ex. medida feita durante o repouso no período de scotofase de um animal diurno).
- VCO<sub>2</sub>**: Volume de gás carbônico produzido.
- VO<sub>2</sub>**: Volume de oxigênio consumido.

## **Resumo geral:**

Os viperídeos estão entre as serpentes de menor custo energético de manutenção, o que é, geralmente, relacionado a seus baixos níveis de deslocamento e a tática de forrageio por emboscada. Dois importantes componentes do alocamento energético destes animais são: 1) o metabolismo de repouso padrão, que está relacionado ao custo de manutenção visceral durante o repouso e 2) o aumento metabólico pós-prandial (AMPP), que está relacionado ao custo do processo digestório.

O presente trabalho teve como objetivos estudar as variações da TMRP (taxa metabólica de repouso padrão) e do AMPP em 5 espécies pertencentes ao gênero *Bothrops* levando em conta aspectos filogenéticos, ontogenéticos e testando hipóteses acerca de possíveis variações destes componentes em função de características ecológicas. Além disso, o presente trabalho testou, através de ferramentas de ponderação filogenética, a hipótese atualmente aceita que prediz que as TMRPs em serpentes estão essencialmente ligadas a estratégia alimentar e não a filogenia.

O trabalho está dividido em quatro capítulos, sendo o primeiro devotado a uma introdução geral acerca dos assuntos que serão abordados nos demais. Os resultados e discussões específicas estão divididos em dois capítulos redigidos em forma de artigo, primeiro referente aos estudos das taxas metabólicas de repouso (capítulo 2) e o segundo sobre o AMPP (capítulo 3). Por fim, a conclusão final acerca dos achados e as perspectivas para pesquisas futuras estão presente no capítulo 4.

**Abstract:**

The viperids are among the snakes with the lowest energetic maintenance costs which are generally related to the low mobility and ambush foraging mode. Two important components of energy allocation in these animals are 1) standard metabolic rates (SMR), related to the cost of keeping visceral components during resting and 2) specific dynamic action (SDA), which is related to the cost of digestion.

The present work aimed to study the variations of SMR and SDA in 5 species of the genus *Bothrops* taking into account aspects of phylogeny and ontogeny plus testing hypotheses about possible variations in these metabolic rates related to ecological characteristics. Furthermore, the present study used phylogenetic weighting tools to test the currently accepted hypothesis that predicts that SMR in snakes is related to the feeding strategy and not to phylogeny.

The work is divided into four different chapters. Chapter 1 is devoted to a general introduction about the issues that will be addressed in the others chapters. The results and discussions are divided into two chapters presented as articles, the first referring to studies of SMR (chapter 2) and the second to the SDA (chapter 3). Finally, in chapter 4 we include the final conclusion and prospects for future research

- Andrade, D. V.; Cruz-Neto, A. P. & Abe, A. S. (1997). "Meal Size and Specific Dynamic Action in the Rattlesnake *Crotalus Durissus* (Serpentes : Viperidae)." Herpetologica **53**(4): 485-493.
- Barbo, F. E.; Grazziotin, F. G.; Sazima, I.; Martins, M. & Sawaya, R. J. (2012). "A New and Threatened Insular Species of Lancehead from Southeastern Brazil." Herpetologica **68**(3): 418-429.
- Beaupre, S. J. (2005). "Ratio Representations of Specific Dynamic Action (Mass-Specific Sda and Sda Coefficient) Do Not Standardize for Body Mass and Meal Size." Physiological and Biochemical Zoology **78**(1): 126-131.
- Beaupre, S. J. & Duvall, D. (1998). "Variation in Oxygen Consumption of the Western Diamondback Rattlesnake (*Crotalus Atrox*): Implications for Sexual Size Dimorphism." Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology **168**(7): 497-506.
- Beaupre, S. J. & Zaidan, F. (2001). "Scaling of Co<sub>2</sub> Production in the Timber Rattlesnake (*Crotalus Horridus*), with Comments on Cost of Growth in Neonates and Comparative Patterns." Physiological and Biochemical Zoology **74**(5): 757-768.
- Bessler, S. M.; Stubblefield, M. C.; Ultsch, G. R. & Secor, S. M. (2010). "Determinants and Modeling of Specific Dynamic Action for the Common Garter Snake (*Thamnophis Sirtalis*)." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **88**(8): 808-820.
- Campbell, J. A. & Lamar, W. W. (2004). *Venomous of the Western Hemisphere*, Cornell University, Press, Ithaca, New York. v.1.
- Christel, C.; DeNardo, D. & Secor, S. (2007). "Metabolic and Digestive Response to Food Ingestion in a Binge-Feeding Lizard, the Gila Monster (*Heloderma Suspectum*)." Journal of Experimental Biology **210**(19): 3430-3439.
- Christian, K.; Webb, J. K.; Schultz, T. & Green, B. (2007). "Effects of Seasonal Variation in Prey Abundance on Field Metabolism, Water Flux, and Activity of a Tropical Ambush Foraging Snake." Physiological and Biochemical Zoology **80**(5): 522-533.
- Chu, C. W.; Tsai, T. S.; Tsai, I. H.; Lin, Y. S. & Tu, M. C. (2009). "Prey Envenomation Does Not Improve Digestive Performance in Taiwanese Pit Vipers (*Trimeresurus Gracilis* and *T. Stejnegeri Stejnegeri*)." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **152**(4): 579-585.
- Cruzneto, A. P. & Abe, A. S. (1994). "Ontogenic Variation of Oxygen-Uptake in the Pitviper *Bothrops Moojeni* (Serpentes, Viperidae)." Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology **108**(4): 549-554.
- Cundall, D. & Greene, H. (1982). "Evolution of the Feeding Apparatus in Alethinophidian Snakes." American Zoologist **22**(4): 924-924.
- Dorcas, M. E.; Hopkins, W. A. & Roe, J. H. (2004). "Effects of Body Mass and Temperature on Standard Metabolic Rate in the Eastern Diamondback Rattlesnake (*Crotalus Adamanteus*)." Copeia(1): 145-151.



- Egler, S. G.; Oliveira, M. E. & Martins, M. (1996). *Bothrops Atrox* (Common Lancehead), Foraging Behavior and Ophiophagy. *Herpetol. Rev.* . **27**: 22-23.
- Enok, S.; Simonsen, L. S. & Wang, T. (2013). "The Contribution of Gastric Digestion and Ingestion of Amino Acids on the Postprandial Rise in Oxygen Consumption, Heart Rate and Growth of Visceral Organs in Pythons." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **165**(1): 46-53.
- Gavira, R. S. B. & Andrade, D. V. (2013a). "Meal Size Effects on the Postprandial Metabolic Response of *Bothrops Alternatus* (Serpentes: Viperidae)." *Zoologia* **30**(3): 291-295.
- Gavira, R. S. B. & Andrade, D. V. (2013b). "Temperature and Thermal Regime Effects on the Specific Dynamic Action of *Bothrops Alternatus* (Serpentes, Viperidae)." *Amphibia-Reptilia* **34**(4): 483-491.
- Greene, H. W. (1997). *Snakes: The Evolution of Mystery in Nature*. London, *Univers. Californ. Press*.
- Greene, S.; McConnachie, S.; Secor, S. & Perrin, M. (2013). "The Effects of Body Temperature and Mass on the Postprandial Metabolic Responses of the African Egg-Eating Snakes *Dasypeltis Scabra* and *Dasypeltis Inornata*." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **165**(2): 97-105.
- Hampton, P. M. & Moon, B. R. (2013). "Gape Size, Its Morphological Basis, and the Validity of Gape Indices in Western Diamond-Backed Rattlesnakes (*Crotalus Atrox*)." *Journal of Morphology* **274**(2): 194-202.
- Hartmann, M. T.; Hartmann, P. A.; Cechin, S. Z. & Martins, M. (2005). "Feeding Habits and Habitat Use in *Bothrops Pubescens* (Viperidae, Crotalinae) from Southern Brazil." *Journal of Herpetology* **39**(4): 664-667.
- Hartmann, P. A.; Hartmann, M. T. & Giasson, L. O. M. (2003). Uso Do Habitat E Alimentação Em Juvenis De *Bothrops Jararaca* (Serpentes: Viperidae) Na Mata Atlântica Do Sudeste Do Brasil. *Phyllomedusa* **v.2:1**: 35-41.
- Hopkins, W. A.; Roe, J. H.; Philippi, T. & Congdon, J. D. (2004). "Standard and Digestive Metabolism in the Banded Water Snake, *Nerodia Fasciata Fasciata*." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **137**(1): 141-149.
- Lillywhite, H. B. (2014). *How Snakes Work: Structure, Function and Behaviour of the World's Snakes*, Oxford University Press.
- Marques, O. A. V.; Martins, M. & Sazima, I. (2002). "A New Insular Species of Pitviper from Brazil, with Comments on Evolutionary Biology and Conservation of the *Bothrops Jararaca* Group (Serpentes, Viperidae)." *Herpetologica* **58**(3): 303-312.
- Marques, O. A. V. & Sazima, I. (2009). "Old Habits Die Hard: Mouse Handling by a Pitviper Species on a Rodent-Free Island." *Amphibia-Reptilia* **30**(3): 435-438.

Martins, M.; Marques, O. A. V. & Sazima, I. (2002). Ecological and Phylogenetic Correlates of Feeding Habits in Neotropical Pitvipers (Genus *Bothrops*). In: Schuett G. W.; Hoggren M.; Douglas M. E. And Greene H. W. In *Biology of the Vipers*, Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, UT.: 307-328.

McCue, M. D. (2006). "Specific Dynamic Action: A Century of Investigation." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **144**(4): 381-394.

McCue, M. D. (2007). "Prey Envenomation Does Not Improve Digestive Performance in Western Diamondback Rattlesnakes (*Crotalus Atrox*)." Journal of Experimental Zoology Part a-Ecological Genetics and Physiology **307A**(10): 568-577.

McCue, M. D.; Bennett, A. F. & Hicks, J. W. (2005). "The Effect of Meal Composition on Specific Dynamic Action in Burmese Pythons (*Python Molurus*)." Physiological and Biochemical Zoology **78**(2): 182-192.

McCue, M. D. & Lillywhite, H. B. (2002). "Oxygen Consumption and the Energetics of Island-Dwelling Florida Cottonmouth Snakes." Physiological and Biochemical Zoology **75**(2): 165-178.

Monteiro, C.; Montgomery, C. E.; Spina, F.; Sawaya, R. J. & Martins, M. (2006). "Feeding, Reproduction, and Morphology of *Bothrops Mattogrossensis* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) in the Brazilian Pantanal." Journal of Herpetology **40**(3): 408-413.

Nogueira, C.; Sawaya, R. J. & Martins, M. (2003). "Ecology of the Pitviper, *Bothrops Moojeni*, in the Brazilian Cerrado." Journal of Herpetology **37**(4): 653-659.

Oliveira, M. E. & Martins, M. (2001). When and Where to Find a Pitviper: Activity Patterns and Habitat Use of the Lancehead *bothrops Atrox* in Central Amazonia, Brazil. Herpetological Natural History **8**: 101-110.

Ott, B. D. & Secor, S. M. (2007). "Adaptive Regulation of Digestive Performance in the Genus *Python*." Journal of Experimental Biology **210**(2): 340-356.

Queiroz, G. P.; Pessoa, L. A.; Portaro, F. C. V.; Furtado, M. D. D. & Tambourgi, D. V. (2008). "Interspecific Variation in Venom Composition and Toxicity of Brazilian Snakes from *Bothrops* Genus." Toxicon **52**(8): 842-851.

Roe, J. H.; Hopkins, W. A.; Snodgrass, J. W. & Congdon, J. D. (2004). "The Influence of Circadian Rhythms on Pre- and Post-Prandial Metabolism in the Snake *Lamprophis Fuliginosus*." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **139**(2): 159-168.

Sazima, I. (1992). natural History of the Jararaca Pitviper, *bothrops Jararaca*, in Southeastern Brazil. In: *Biology of the pitvipers*. Campbell, J. A.; Brodie, E. D., Tyler, Texas, EUA: Selva.: 199-216.

SECOR, S. & DIAMOND, J. (1994). "Burmese Pythons - a New Model of Gastrointestinal Adaptation." Faseb Journal **8**(4): A62-A62.

- Secor, S. M. (2009). "Specific Dynamic Action: A Review of the Postprandial Metabolic Response." Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology **179**(1): 1-56.
- Secor, S. M. & Boehm, M. (2006). "Specific Dynamic Action of Ambystomatid Salamanders and the Effects of Meal Size, Meal Type, and Body Temperature." Physiological and Biochemical Zoology **79**(4): 720-735.
- Secor, S. M. & Diamond, J. (1998). "A Vertebrate Model of Extreme Physiological Regulation." Nature **395**(6703): 659-662.
- Secor, S. M. & Diamond, J. M. (2000). "Evolution of Regulatory Responses to Feeding in Snakes." Physiological and Biochemical Zoology **73**(2): 123-141.
- Secor, S. M. & Nagy, K. A. (1994). "Bioenergetic Correlates of Foraging Mode for the Snakes *Crotalus-Cerastes* and *Masticophis-Flagellum*." Ecology **75**(6): 1600-1614.
- Toledo, L. F.; Abe, A. S. & Andrade, D. V. (2003). "Temperature and Meal Size Effects on the Postprandial Metabolism and Energetics in a Boid Snake." Physiological and Biochemical Zoology **76**(2): 240-246.
- Tsai, T. S.; Lee, H. J. & Tu, M. C. (2008). "Specific Dynamic Action, Apparent Assimilation Efficiency, and Digestive Rate in an Arboreal Pitviper, *Trimeresurus Stejnegeri Stejnegeri*." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **86**(10): 1139-1151.
- Valdujo, P. H.; Nogueira, C. & Martins, M. (2002). "Ecology of *Bothrops Neuwiedi Pauloensis* (Serpentes : Viperidae : Crotalinae) in the Brazilian Cerrado." Journal of Herpetology **36**(2): 169-176.
- Zaidan, F. & Beaupre, S. J. (2003). "Effects of Body Mass, Meal Size, Fast Length, and Temperature on Specific Dynamic Action in the Timber Rattlesnake (*Crotalus Horridus*)." Physiological and Biochemical Zoology **76**(4): 447-458.

#### 4.0 Discussão geral e Considerações finais:

As taxas metabólicas de serpentes vêm sendo alvo de estudos em diferentes contextos durante as últimas décadas (Andrews & Pough, 1985; Chappell & Ellis, 1987; Cruzneto & Abe, 1994; Secor & Nagy, 1994; Andrade *et al.*, 1997; Bedford & Christian, 1998; Beaupre & Zaidan, 2001; McCue & Lillywhite, 2002; Dorcas *et al.*, 2004; Hopkins *et al.*, 2004; Roe *et al.*, 2004; Lignot *et al.*, 2005; McCue *et al.*, 2005; McCue, 2006; Christian *et al.*, 2007; Ott & Secor, 2007; Secor, 2009; Bessler *et al.*, 2010; Bronikowski & Vleck, 2010; Gavira & Andrade, 2013; Greene *et al.*, 2013). O avanço tecnológico dos equipamentos utilizados bem como o refinamento dos métodos de análise empregados permitiram, ao longo deste período, resultados cada vez mais representativos.

A maioria dos trabalhos realizados até o presente momento concentrou-se na caracterização e análise das taxas metabólicas de repouso (TMR e TMRP) e pós-prandiais das diferentes espécies. Tal enfoque deve-se, em grande parte, a importância destes dois parâmetros no modo de vida dos animais, sendo geralmente responsáveis pela maior parte de sua despesa energética anual (Secor & Nagy, 1994; Christian *et al.*, 2007). Além disso, outras questões também tem ganhado destaque, como o emprego das serpentes de alimentação infrequente como modelos de estudos de fisiologia digestória (Secor & Diamond, 1998; Secor & Diamond, 2000).

Apesar do número relativamente alto de estudos sobre as taxas metabólicas de repouso e pós-prandiais em serpentes nas últimas décadas, existe uma forte tendência no tipo de abordagem que geralmente é realizada, o que por vezes acaba deixando importantes lacunas na compreensão de como tais taxas variam na história evolutiva do grupo. Um exemplo deste fato advém da falta de emprego de ferramentas filogenéticas nas comparações metabólicas entre os diferentes táxons. Há mais de duas décadas ferramentas de ponderação filogenética foram desenvolvidas e aperfeiçoadas (Felsenstein, 1985; Grafen, 1989; Garland *et al.*, 1992; Pagel, 1999; Rohlf, 2001; Freckleton *et al.*, 2002; Blomberg *et al.*, 2003; Garland *et al.*, 2005; Ives *et al.*, 2007; Revell *et al.*, 2008; Ives & Garland, 2010). Contudo, até o presente momento nosso trabalho foi o primeiro a usar esta abordagem no estudo das taxas metabólicas de repouso de serpentes. Da mesma forma, as relações alométricas das taxa metabólicas de repouso de serpentes têm sido estudadas ao longo dos últimos anos com certa frequência (Andrews & Pough, 1985; Chappell & Ellis, 1987; Cruzneto & Abe, 1994; Secor & Nagy, 1994; Andrade *et al.*, 1997; Bedford & Christian, 1998; Beaupre & Zaidan, 2001; McCue & Lillywhite, 2002; Dorcas *et al.*, 2004; Hopkins *et al.*, 2004; Roe *et al.*, 2004; Lignot *et al.*, 2005; McCue *et al.*, 2005; McCue, 2006; Christian *et al.*, 2007; Ott & Secor, 2007; Secor, 2009; Bessler *et al.*, 2010; Bronikowski & Vleck, 2010; Gavira & Andrade, 2013; Greene *et al.*, 2013), porém poucos desses estudos abordaram a influência da massa nas taxas metabólicas pós-prandiais destes animais a despeito de seu importante efeito (Zaidan & Beaupre, 2003; Beaupre, 2005; Tsai *et al.*, 2008). Ao invés disso, alguns dos autores

utilizaram o cálculo da taxa metabólica para uma massa comum através do emprego de expoentes de regressão de repouso para as comparações entre diferentes táxons (Secor & Diamond, 2000). Este procedimento é criticável, pois provavelmente, incorre em um erro já que, ao menos nos trabalhos que determinaram expoentes de massa corpórea para AMPP (Beaupre & Zaidan, 2003; Tsai, 2008), estes foram consideravelmente maiores do que aqueles determinados para TMRP. No presente trabalho foi usada uma abordagem que incorpora nas análises alguns dos pontos menos explorados até o momento como: 1) a influência das relações filogenéticas da taxa metabólica de repouso; 2) a incorporação da massa corpórea nas análises sobre o AMPP; e 3) a incorporação de uma análise sobre a variação ontogenética sobre o AMPP. Em linhas gerais, os principais resultados deste trabalho acerca da análise da influência filogenética e da estratégia alimentar sobre a TMRP discordam da hipótese proposta por Secor & Diamond (2000) ainda que as interpretações de ambas as análises devam ser vistas com cautela (ver discussão específica no capítulo 2). Os achados aqui apresentados para o gênero *Bothrops* apontam para as conclusões de que:

1) as serpentes deste gênero são animais econômicos do ponto de vista de suas demandas energéticas em repouso tais quais as demais espécies de Crotalinae estudadas, uma vez que estas apresentam TMRP inferior as taxas metabólicas de repouso da maioria das outras espécies de serpentes medidas até o presente momento (Chappell & Ellis, 1987; Beaupre & Duvall, 1998; McCue & Lillywhite, 2002; Zaidan & Beaupre, 2003; Dorcas *et al.*, 2004);

2) as taxas metabólicas de repouso das serpentes de *Bothrops* aqui estudadas variaram positivamente com a massa corpórea e não apresentaram diferenças significativas entre si, independentemente da filogenia ou do habitat que ocupam;

3) o perfil das alterações relacionadas ao AMPP foi semelhante ao de outras serpentes, com um abruço aumento metabólico nas primeiras horas após a ingestão do alimento e um lento e gradual retorno as taxas metabólicas pré-prandiais (ver McCue, 2006; Secor, 2009);

4) os valores de AMPP e  $E_{AMPP}\%$  determinados foram próximos àqueles aferidos para os demais Crotalinae e estão de acordo com a hipótese de que estes animais apresentam um custo digestório bastante inferior àqueles mensurados em outras serpentes que se alimentam infreqüentemente, como pythonídeos e boídeos (ver Andrade et al., 1997; Zaidan e Beaupre, 2003);

5) Os indivíduos filhotes de *Bothrops alternatus* (especialista em mamíferos) apresentaram um menor custo energético para o processamento da ingesta (lactentes de camundongos) quando comparados as espécies de *Bothrops* generalistas alimentares, o que representa diferentes compromissos metabólicos relacionados as diferentes estratégias alimentares (especialista x generalista).

Ainda que a quantidade de informações acerca das taxas metabólicas das serpentes venha acumulando-se ao longo dos anos, a compreensão de como outros elementos

relacionados ao modo de vida destes animais influenciam em seu balanço energético ainda é incipiente. Dentro deste contexto, alguns desses principais elementos serão discutidos a seguir com perspectivas para futuros estudos:

*a) Ritmos circadianos*

A incorporação de elementos cronobiológicos é um aspecto que deve ser levado em consideração em futuros estudos que avaliem o metabolismo das serpentes e parece variar consideravelmente de espécie para espécie. Roe e colaboradores (2004) notaram um forte componente circadiano nas taxas metabólicas de *Lamprophis fuliginosus*. Por outro lado, nenhuma diferença metabólica circadiana foi notada por Bedford e Christian (1998) para 7 espécies de pythonídeos australianos. É provável que, para certas espécies de serpentes, a ritmicidade na taxa metabólica possa guardar relações com as condições do ambiente, e fatores sazonais (Stuginski *et al.*, 2012). Neste contexto, a determinação do padrão circadiano e sazonal das atividades é essencial e tanto estudos de campo como estudos desenvolvidos em laboratório podem contribuir em tais determinações (Oliveira & Martins, 2001; Brown *et al.*, 2005; Christian *et al.*, 2007; Abom *et al.*, 2012; Howze & Smith, 2012; Maritz & Alexander, 2012; Stuginski *et al.*, 2012).



*b) Biologia térmica das serpentes*

As serpentes, tal qual a imensa maioria dos demais répteis, são incapazes de sustentar altas temperaturas corporais através de seu metabolismo energético (Cowles & Bogert, 1944; Huey, 1982; Lillywhite, 1987; Hertz *et al.*, 1993), salvo em determinadas situações particulares (Tattersall *et al.*, 2004; Stuginski *et al.*, 2011). Assim, a dependência da temperatura ambiental é, provavelmente, um dos fatores de grande relevância na dispersão, atividades diárias e sazonais destes animais (Jacobson *et al.*, 2012). Ainda que tal dependência seja mais evidente nas espécies termorreguladoras ativas (Lillywhite, 1987; Roark & Dorcas, 2000; Luiselli & Akani, 2002), mesmo espécies que não apresentam termorregulação comportamental, ou aquelas que vivem em ambientes termoestáveis, sofrem alguma influência da temperatura ambiental (Shine *et al.*, 2002). Isto deve-se ao fato de que a muitos dos desempenhos fisiológicos nestes animais (p.ex.: locomoção, digestão, capacidade de percepção através dos sentidos, reprodução entre outras) são dependentes do intervalo de temperaturas disponíveis no ambiente (Huey, 1982; Lillywhite, 1987; Mori *et al.*, 2002; Ladyman *et al.*, 2003; Lourdais *et al.*, 2004; Aubret *et al.*, 2005; Bessler *et al.*, 2010; Beaupre & Zaidan, 2012; Aidam *et al.*, 2013). As taxas metabólicas são especialmente sensíveis à temperatura e, em termos gerais, tendem a aumentar significativamente em animais ectotérmicos conforme a temperatura aumenta, podendo mais do que dobrar em um

intervalo térmico de 10°C (Chappell & Ellis, 1987; Bedford & Christian, 1998; Dorcas *et al.*, 2004). A magnitude deste aumento é simbolizada pelos valores de Q10 e varia conforme a espécie e o intervalo térmico em que é aferido. Chappell e Ellis em 1987 determinaram valores médios de Q10 ao redor de 2,61 para os pythonídeos e boídeos aferidos entre 20-30°C. Já Bedford e Christian em 1998, observaram valores de Q10 que variavam entre 1,48 e 4,10 (24-30°C) para 7 espécies de pythonídeos australianos. Em viperídeos, uma série de trabalhos apontam para valores que variaram entre 1,8 e 4,8 (Beaupre & Duvall, 1998; Beaupre & Zaidan, 2001; McCue & Lillywhite, 2002; Zaidan & Beaupre, 2003; Dorcas *et al.*, 2004). Assim sendo, as mudanças na temperatura corporal destes animais decorrentes de mudanças no ambiente tem um efeito direto sobre o seu custo de manutenção, o que de fato é notado pela procura por temperaturas preferenciais diferenciadas durante o repouso e a atividade (Stuginski *et al.*, dados não publicados). O efeito da temperatura sobre a digestão destes animais é mais sutil. Como foi discutido anteriormente, diferentes temperaturas parecem afetar pouco o AMPP em diversas espécies, ocorrendo apenas uma aceleração do processo digestório (McCue, 2006; Secor, 2009). Todavia, este fator pode representar uma significativa vantagem ecológica já que animais que completem a digestão mais rapidamente podem alimentar-se novamente em um intervalo mais curto e evitarem o risco de predação pela limitação de sua mobilidade dado o grande volume de alimento no trato gastrointestinal (Lillywhite, 2014). Assim, a variação na taxa metabólica em

função da temperatura e a diversidade de estratégias termais empregadas por estes animais durante as suas atividades levam a uma enorme consequência energética. Certamente, o conhecimento sobre a biologia termal destes animais é fundamental na aplicação dos dados metabólicos gerados em laboratório para modelos que contemplem a ecologia de vida livre desses animais.

*c) Taxas metabólicas de campo*

A mensuração das taxas metabólicas de repouso e pós-prandiais sobre regimes térmicos pré-estabelecidos fornecem importantes evidências sob como tais taxas se modificam em função de outras variáveis. Todavia, em vida livre, as relações metabólicas destes animais são mais complexas e envolvem diferentes níveis de atividades e variação termal. Neste contexto, as medidas metabólicas de campo (FMR do inglês *field metabolic rate*) são de extrema importância, por avaliarem o gasto metabólico dos animais em campo durante suas atividades rotineiras e sob condições abióticas naturais (Secor & Nagy, 1994; Christian *et al.*, 2007). Tal técnica usa a ciclagem de isótopos marcados de hidrogênio e oxigênio para estimar a taxa metabólica destes animais e seu uso em répteis vem se mostrando promissor (Speakman & Racey, 1988a; b; Nagy, 1989; Butler *et al.*, 2004; Nagy, 2005). A compilação dos dados das taxas metabólicas de campo (FMR), somados ao TMPR, AMPP e o conhecimento da biologia térmica destes animais é determinante na

compreensão de como as serpentes alocam sua energia ao longo da vida e permite, por exemplo, estimar a quantidade de energia empregada nas diferentes atividades diárias e sazonais. Isso permite estimar quanto da energia anual é devotada à digestão, repouso, deslocamento entre outras atividades (Christian *et al.*, 2007). Neste contexto, a associação de mais estudos que avaliem os padrões de atividade e deslocamento dos animais em seu ambiente natural é absolutamente crucial na interpretação dos resultados fisiológicos interpretados à luz da ecologia dos animais.

#### *d) Custo metabólico da reprodução*

As serpentes apresentam uma biologia reprodutiva bastante diversificada. Esta variedade é evidente nos modos de reprodução (viviparidade e oviparidade), nos períodos em que esta ocorre, nos rituais comportamentais ligados a corte e a cópula, na diversificação do grau de interação entre a mãe e os embriões (placentação), nas estratégias fisiológicas envolvidas na capitalização de recursos para o ato reprodutivo (*Capital breeders vs Incoming breeders*), além de outras intrigantes características fisiológicas ligadas a estocagem espermática (Bonnet & Naulleau, 1994; 1996; Naulleau & Bonnet, 1996; Almeida-Santos *et al.*, 2004; Michel *et al.*, 2013). Assim como o é para uma grande variedade de espécies, o investimento reprodutivo nas serpentes representa uma parte significativa do orçamento metabólico. Fêmeas de serpentes *capital breeders* em áreas sujeitas a uma forte variação da atividade sazonal,

por exemplo, podem ter de estocar reservas por alguns anos até estarem aptas ao evento reprodutivo (Bonnet & Naulleau, 1994; Naulleau & Bonnet, 1996; Ladyman *et al.*, 2003; Lourdais *et al.*, 2004). Além do custo metabólico associado a vitelogênese, o aumento de massa metabolicamente ativa e, por vezes, padrões termorregulatórios diferenciados também afetam diretamente as taxas metabólicas de repouso e por conseguinte o gasto energético destes animais (ver Van Dyke & Beaupre, 2011). Apesar da enorme consequência metabólica da reprodução, até o presente momento, poucos estudos avaliaram o custo energético ao longo da gestação (Van Dyke & Beaupre, 2011). Neste contexto, o emprego de técnicas respirométricas associadas ao acompanhamento ultrassonográfico do desenvolvimento dos embriões parece ser uma opção extremamente interessante para estudos futuros que tencionem esclarecer este ponto ainda obscuro acerca do metabolismo de serpentes.

Por fim, o estudo das taxas metabólicas de serpentes é uma área em expansão e aberta a ilimitadas possibilidades. O avanço tecnológico dos equipamentos, o refinamento das técnicas de análise, o melhor conhecimento acerca da ecologia dos animais e o crescente número de pesquisadores e estudantes interessados em desenvolver projetos nesta área destacam-na como um campo promissor dentro da herpetologia. Todavia, a integração entre as diferentes áreas do conhecimento neste campo ainda é deficitária e neste aspecto a multidisciplinaridade é uma importante ferramenta. É imperativo que futuros estudos tenham

uma abordagem cada vez mais multidisciplinar, incluindo elementos de áreas como a ecologia, sistemática, genética entre outras, para que seja possível uma compreensão mais holística dos fenômenos envolvidos neste aspecto tão importante da vida destes animais.

## Referências bibliográficas:

- Abom, R.; Bell, K.; Hodgson, L. & Schwarzkopf, L. (2012). "Moving Day and Night: Highly Labile Diel Activity Patterns in a Tropical Snake." Biotropica **44**(4): 554-559.
- Aidam, A.; Michel, C. L. & Bonnet, X. (2013). "Effect of Ambient Temperature in Neonate Aspic Vipers: Growth, Locomotor Performance and Defensive Behaviors." Journal of Experimental Zoology Part a-Ecological Genetics and Physiology **319A**(6): 310-318.
- Almeida-Santos, S. M.; Abdalla, F. M. F.; Silveira, P. F.; Yamanouye, N.; Breno, M. C. & Salomao, M. G. (2004). "Reproductive Cycle of the Neotropical Crotalus Durissus Terrificus: I. Seasonal Levels and Interplay between Steroid Hormones and Vasotocinase." General and Comparative Endocrinology **139**(2): 143-150.
- Andrade, D. V.; Cruz-Neto, A. P. & Abe, A. S. (1997). "Meal Size and Specific Dynamic Action in the Rattlesnake Crotalus Durissus (Serpentes : Viperidae)." Herpetologica **53**(4): 485-493.
- Andrews, R. M. & Pough, F. H. (1985). "Metabolism of Squamate Reptiles - Allometric and Ecological Relationships." Physiological Zoology **58**(2): 214-231.
- Aubret, F.; Bonnet, X.; Shine, R. & Maumelat, S. (2005). "Why Do Female Ball Pythons (Python Regius) Coil So Tightly around Their Eggs?" Evolutionary Ecology Research **7**(5): 743-758.
- Beaupre, S. J. (2005). "Ratio Representations of Specific Dynamic Action (Mass-Specific Sda and Sda Coefficient) Do Not Standardize for Body Mass and Meal Size." Physiological and Biochemical Zoology **78**(1): 126-131.
- Beaupre, S. J. & Duvall, D. (1998). "Variation in Oxygen Consumption of the Western Diamondback Rattlesnake (Crotalus Atrox): Implications for Sexual Size Dimorphism." Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology **168**(7): 497-506.
- Beaupre, S. J. & Zaidan, F. (2001). "Scaling of Co2 Production in the Timber Rattlesnake (Crotalus Horridus), with Comments on Cost of Growth in Neonates and Comparative Patterns." Physiological and Biochemical Zoology **74**(5): 757-768.
- Beaupre, S. J. & Zaidan, F. (2012). "Digestive Performance in the Timber Rattlesnake (Crotalus Horridus) with Reference to Temperature Dependence and Bioenergetic Cost of Growth." Journal of Herpetology **46**(4): 637-642.
- Bedford, G. S. & Christian, K. A. (1998). "Standard Metabolic Rate and Preferred Body Temperatures in Some Australian Pythons." Australian Journal of Zoology **46**(4): 317-328.

- Bessler, S. M.; Stubblefield, M. C.; Ultsch, G. R. & Secor, S. M. (2010). "Determinants and Modeling of Specific Dynamic Action for the Common Garter Snake (*Thamnophis Sirtalis*)." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **88**(8): 808-820.
- Blomberg, S. P.; Garland, T. & Ives, A. R. (2003). "Testing for Phylogenetic Signal in Comparative Data: Behavioral Traits Are More Labile." Evolution **57**(4): 717-745.
- Bonnet, X. & Naulleau, G. (1994). "A Body Condition Index (Bci) in Snakes to Study Reproduction." Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Iii-Sciences De La Vie-Life Sciences **317**(1): 34-41.
- Bonnet, X. & Naulleau, G. (1996). "Catchability in Snakes: Consequences for Estimates of Breeding Frequency." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **74**(2): 233-239.
- Bronikowski, A. & Vleck, D. (2010). "Metabolism, Body Size and Life Span: A Case Study in Evolutionarily Divergent Populations of the Garter Snake (*Thamnophis Elegans*)." Integrative and Comparative Biology **50**(5): 880-887.
- Brown, G. P.; Shine, R. & Madsen, T. (2005). "Spatial Ecology of Slatey-Grey Snakes (*Stegonotus Cucullatus*, Colubridae) on a Tropical Australian Floodplain." Journal of Tropical Ecology **21**: 605-612.
- Butler, P. J.; Green, J. A.; Boyd, I. L. & Speakman, J. R. (2004). "Measuring Metabolic Rate in the Field: The Pros and Cons of the Doubly Labelled Water and Heart Rate Methods." Functional Ecology **18**(2): 168-183.
- Chappell, M. A. & Ellis, T. M. (1987). "Resting Metabolic Rates in Boid Snakes - Allometric Relationships and Temperature Effects." Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology **157**(2): 227-235.
- Christian, K.; Webb, J. K.; Schultz, T. & Green, B. (2007). "Effects of Seasonal Variation in Prey Abundance on Field Metabolism, Water Flux, and Activity of a Tropical Ambush Foraging Snake." Physiological and Biochemical Zoology **80**(5): 522-533.
- Cowles, R. B. & Bogert, C. M. (1944). "A Preliminary Study of the Thermal Requirements of Desert Reptiles." Bulletin of the American Museum of Natural History **83**: 263-296.
- Cruzneto, A. P. & Abe, A. S. (1994). "Ontogenic Variation of Oxygen-Uptake in the Pitviper Bothrops Mooleni (Serpentes, Viperidae)." Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology **108**(4): 549-554.
- Dorcas, M. E.; Hopkins, W. A. & Roe, J. H. (2004). "Effects of Body Mass and Temperature on Standard Metabolic Rate in the Eastern Diamondback Rattlesnake (*Crotalus Adamanteus*)." Copeia(1): 145-151.
- Felsenstein, J. (1985). "Phylogenies and the Comparative Method." American Naturalist **125**(1): 1-15.



- Freckleton, R. P.; Harvey, P. H. & Pagel, M. (2002). "Phylogenetic Analysis and Comparative Data: A Test and Review of Evidence." *American Naturalist* **160**(6): 712-726.
- Garland, T.; Bennett, A. F. & Rezende, E. L. (2005). "Phylogenetic Approaches in Comparative Physiology." *Journal of Experimental Biology* **208**(16): 3015-3035.
- Garland, T.; Harvey, P. H. & Ives, A. R. (1992). "Procedures for the Analysis of Comparative Data Using Phylogenetically Independent Contrasts." *Systematic Biology* **41**(1): 18-32.
- Gavira, R. S. B. & Andrade, D. V. (2013). "Meal Size Effects on the Postprandial Metabolic Response of *Bothrops alternatus* (Serpentes: Viperidae)." *Zoologia* **30**(3): 291-295.
- Grafen, A. (1989). "The Phylogenetic Regression." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **326**(1233): 119-157.
- Greene, S.; McConnachie, S.; Secor, S. & Perrin, M. (2013). "The Effects of Body Temperature and Mass on the Postprandial Metabolic Responses of the African Egg-Eating Snakes *Dasypeltis scabra* and *Dasypeltis inornata*." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **165**(2): 97-105.
- Hertz, P. E.; Huey, R. B. & Stevenson, R. D. (1993). "Evaluating Temperature Regulation by Field-Active Ectotherms - the Fallacy of the Inappropriate Question." *American Naturalist* **142**(5): 796-818.
- Hopkins, W. A.; Roe, J. H.; Philippi, T. & Congdon, J. D. (2004). "Standard and Digestive Metabolism in the Banded Water Snake, *Nerodia fasciata fasciata*." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **137**(1): 141-149.
- Howze, J. M. & Smith, L. L. (2012). "Factors Influencing Eastern Kingsnake Diel Activity." *Copeia*(3): 460-464.
- Huey, R. B. (1982). Temperature Physiology and Ecology of Reptiles. *Biology of Reptilia*. (Edited by Gans C. and Pough F. H.), Academic press, London. **v.12**: 25-91.
- Ives, A. R. & Garland, T. (2010). "Phylogenetic Logistic Regression for Binary Dependent Variables." *Systematic Biology* **59**(1): 9-26.
- Ives, A. R.; Midford, P. E. & Garland, T. (2007). "Within-Species Variation and Measurement Error in Phylogenetic Comparative Methods." *Systematic Biology* **56**(2): 252-270.
- Jacobson, E.; Barker, D.; Barker, T.; Mauldin, R.; Avery, M.; Engeman, R. & Secor, S. (2012). "Environmental Temperatures, Physiology and Behavior Limit the Range Expansion of Invasive Burmese Pythons in Southeastern USA." *Integrative Zoology* **7**(3): 271-285.
- Ladyman, M.; Bonnet, X.; Lourdaïs, O.; Bradshaw, D. & Naulleau, G. (2003). "Gestation, Thermoregulation, and Metabolism in a Viviparous Snake, *Vipera aspis*:

Evidence for Fecundity-Independent Costs." Physiological and Biochemical Zoology **76**(4): 497-510.

Lignot, J. H.; Helmstetter, C. & Secor, S. M. (2005). "Postprandial Morphological Response of the Intestinal Epithelium of the Burmese Python (*Python Molurus*)." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **141**(3): 280-291.

Lillywhite, H. B. (1987). Temperature, Energetics, and Physiological Ecology. *In snakes: Ecology and Evolutionary Biology*. (Edited by Seigel R. A.; Collins J. T. And Novak S. S.), Macmillan, New York.: 422-477.

Lillywhite, H. B. (2014). *How Snakes Work: Structure, Function and Behaviour of the World's Snakes*, Oxford University Press.

Lourdais, O.; Shine, R.; Bonnet, X.; Guillon, M. & Naulleau, G. (2004). "Climate Affects Embryonic Development in a Viviparous Snake, *Vipera Aspis*." Oikos **104**(3): 551-560.

Luiselli, L. & Akani, G. C. (2002). "Is Thermoregulation Really Unimportant for Tropical Reptiles? Comparative Study of Four Sympatric Snake Species from Africa." Acta Oecologica-International Journal of Ecology **23**(2): 59-68.

Maritz, B. & Alexander, G. J. (2012). "Movement Patterns in the Smallest Viper, *Bitis Schneideri*." Copeia(4): 732-737.

McCue, M. D. (2006). "Specific Dynamic Action: A Century of Investigation." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **144**(4): 381-394.

McCue, M. D.; Bennett, A. F. & Hicks, J. W. (2005). "The Effect of Meal Composition on Specific Dynamic Action in Burmese Pythons (*Python Molurus*)." Physiological and Biochemical Zoology **78**(2): 182-192.

McCue, M. D. & Lillywhite, H. B. (2002). "Oxygen Consumption and the Energetics of Island-Dwelling Florida Cottonmouth Snakes." Physiological and Biochemical Zoology **75**(2): 165-178.

Michel, C. L.; Pastore, J. H. & Bonnet, X. (2013). "Impact of Cool Versus Warm Temperatures on Gestation in the Aspice Viper (*Vipera Aspis*)." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **165**(3): 338-342.

Mori, A.; Toda, M. & Ota, H. (2002). Winter Activity of *Ovophis Okinavensis* in the Humid Subtropics: Foraging on Breeding Frogs under Cool Temperature. In Schuett G. W.; Hoggren M.; Douglas M. E. And Greene H. W. In *Biology of the Vipers*, Eagle Mountain Publishing, Eagle Mountain, UT.

Nagy, K. A. (1989). "Field Bioenergetics - Accuracy of Models and Methods." Physiological Zoology **62**(2): 237-252.

Nagy, K. A. (2005). "Field Metabolic Rate and Body Size." Journal of Experimental Biology **208**(9): 1621-1625.

- Naulleau, G. & Bonnet, X. (1996). "Body Condition Threshold for Breeding in a Viviparous Snake." Oecologia **107**(3): 301-306.
- Nogueira, C.; Sawaya, R. J. & Martins, M. (2003). "Ecology of the Pitviper, Bothrops Moojeni, in the Brazilian Cerrado." Journal of Herpetology **37**(4): 653-659.
- Oliveira, M. E. & Martins, M. (2001). When and Where to Find a Pitviper: Activity Patterns and Habitat Use of the Lancehead *bothrops Atrox* in Central Amazonia, Brazil. Herpetological Natural History **8**: 101-110.
- Ott, B. D. & Secor, S. M. (2007). "Adaptive Regulation of Digestive Performance in the Genus Python." Journal of Experimental Biology **210**(2): 340-356.
- Pagel, M. (1999). "Inferring the Historical Patterns of Biological Evolution." Nature **401**(6756): 877-884.
- Revell, L. J.; Harmon, L. J. & Collar, D. C. (2008). "Phylogenetic Signal, Evolutionary Process, and Rate." Systematic Biology **57**(4): 591-601.
- Roark, A. W. & Dorcas, M. E. (2000). "Regional Body Temperature Variation in Corn Snakes Measured Using Temperature-Sensitive Passive Integrated Transponders." Journal of Herpetology **34**(3): 481-485.
- Roe, J. H.; Hopkins, W. A.; Snodgrass, J. W. & Congdon, J. D. (2004). "The Influence of Circadian Rhythms on Pre- and Post-Prandial Metabolism in the Snake Lamprophis Fuliginosus." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **139**(2): 159-168.
- Rohlf, F. J. (2001). "Comparative Methods for the Analysis of Continuous Variables: Geometric Interpretations." Evolution **55**(11): 2143-2160.
- Secor, S. M. (2009). "Specific Dynamic Action: A Review of the Postprandial Metabolic Response." Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology **179**(1): 1-56.
- Secor, S. M. & Diamond, J. (1998). "A Vertebrate Model of Extreme Physiological Regulation." Nature **395**(6703): 659-662.
- Secor, S. M. & Diamond, J. M. (2000). "Evolution of Regulatory Responses to Feeding in Snakes." Physiological and Biochemical Zoology **73**(2): 123-141.
- Secor, S. M. & Nagy, K. A. (1994). "Bioenergetic Correlates of Foraging Mode for the Snakes *Crotalus-Cerastes* and *Masticophis-Flagellum*." Ecology **75**(6): 1600-1614.
- Shine, R.; Sun, L. X.; Kearney, M. & Fitzgerald, M. (2002). "Thermal Correlates of Foraging-Site Selection by Chinese Pit-Vipers (*Gloydius Shedaoensis*, Viperidae)." Journal of Thermal Biology **27**(5): 405-412.
- Speakman, J. R. & Racey, P. A. (1988a). "Consequences of Non Steady-State Co<sub>2</sub> Production for Accuracy of the Doubly Labeled Water Technique - the Importance of Recapture Interval." Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology **90**(2): 337-340.

- Speakman, J. R. & Racey, P. A. (1988b). "The Doubly-Labeled Water Technique for Measurement of Energy-Expenditure in Free-Living Animals." Science Progress **72**(286): 227-237.
- Stuginski, D. R.; Fernandes, W.; Tattersall, G. J. & Abe, A. S. (2011). "Postprandial Thermogenesis in Bothrops Moojeni (Serpentes: Viperidae)." Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases **17**(3): 287-292.
- Stuginski, D. R.; Sant'Anna, S. S.; Fernandes, W. & Abe, A. S. (2012). "Circadian Pattern of Bothrops Moojeni in Captivity (Serpentes: Viperidae)." Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases **18**(1): 97-102.
- Tattersall, G. J.; Milsom, W. K.; Abe, A. S.; Brito, S. P. & Andrade, D. V. (2004). "The Thermogenesis of Digestion in Rattlesnakes." Journal of Experimental Biology **207**(4): 579-585.
- Tsai, T. S.; Lee, H. J. & Tu, M. C. (2008). "Specific Dynamic Action, Apparent Assimilation Efficiency, and Digestive Rate in an Arboreal Pitviper, Trimeresurus Stejnegeri Stejnegeri." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **86**(10): 1139-1151.
- Van Dyke, J. U. & Beaupre, S. J. (2011). "Bioenergetic Components of Reproductive Effort in Viviparous Snakes: Costs of Vitellogenesis Exceed Costs of Pregnancy." Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology **160**(4): 504-515.
- Zaidan, F. & Beaupre, S. J. (2003). "Effects of Body Mass, Meal Size, Fast Length, and Temperature on Specific Dynamic Action in the Timber Rattlesnake (Crotalus Horridus)." Physiological and Biochemical Zoology **76**(4): 447-458.