

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar/UNESP**

NOELE PASCHOINI LEÃO LINO

**EFEITO DA VARIAÇÃO DIÁRIA NA TEMPERATURA CORPORAL NO
INCREMENTO METABÓLICO PÓS-PRANDIAL (SDA) DA ESPÉCIE
*LITHOBATES CATESBEIANUS***

**SÃO CARLOS - SP
2019**

NOELE PASCHOINI LEÃO LINO

**EFEITO DA VARIAÇÃO DIÁRIA NA TEMPERATURA CORPORAL NO
INCREMENTO METABÓLICO PÓS-PRANDIAL (SDA) DA ESPÉCIE *LITHOBATES
CATESBEIANUS***

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: FISILOGIA, sob orientação do Prof. Dr. Cléo Alcantara Costa Leite.

**SÃO CARLOS – SP
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Nos e Paschoini Leão Lino, realizada em 30/08/2019:

Prof. Dr. Cleo Alcântara Costa Leite
UFSCar

Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho
UNIFESP

Profa. Dra. Kênia Cardoso Bibeço
UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado a meus amados pais **Gleidismar e Reinaldo**, que nunca mediram esforços para me ajudar no que fosse preciso. Sempre estiveram e estão ao meu lado, me apoiando e incentivando em minhas escolhas, tanto no campo pessoal quanto no profissional. À minha irmã **Maressa**, companheira de todos as horas. Seu jeito prático de ser, me ajudou a resolver e vencer dificuldades em muitos momentos de minha vida. Amo muito vocês!

Ao meu amado marido **Anderson**, obrigada por sempre estar ao meu lado me apoiando em todos os momentos. Seu amor e companheirismo me ajudaram a sempre lutar pelos meus objetivos. O amor que nos uni nos fortalece cada dia mais, te amo muito!

Os meus avós **Domingos e Aparecida** (*in memoriam*), que mesmo não estando mais entre nós, tiveram grande contribuição em minha educação, o suporte prestado me proporcionou acesso a um ensino de qualidade, que foi a base para meu preparo para a universidade e posteriormente aprimoramento para a pós-graduação. Somente tenho a agradecer! Sempre estarão em meu coração!

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Dr. Cléo Alcantara Costa Leite** pelo acolhimento em sua equipe de pesquisa, para a execução deste trabalho. Através de seus ensinamentos foi possível meu crescimento na área científica e aprimoramento nas práticas didáticas. Agradeço pelo incentivo e confiança em mim depositados, e por sua disponibilidade, sempre pronto para auxiliar no que fosse preciso.

À **toda equipe** dos Laboratórios de Biologia Experimental e Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa agradeço pela ajuda em vários momentos.

Aos **colegas** do Laboratório de Biologia Experimental, a ajuda de vocês foi muito importante, sem ela tudo seria mais difícil!

Aos **professores** do programa de pós-graduação, pois foram responsáveis pela formação de um mestre, os ensinamentos transmitidos durante as aulas proporcionaram meu desenvolvimento na pesquisa e na docência.

Ao **Programa** Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas UFSCar/UNESP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pelo auxílio financeiro disponibilizado.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Primeiramente a **Deus** pela minha vida, saúde, inteligência e por todas as graças alcançadas.

Aos meus pais **Gleidismar e Reinaldo** somente tenho a agradecer por tudo que fizeram por mim. O amor e a dedicação com que me educaram, fizeram eu me tornar uma pessoa determinada, responsável e honesta.

Ao meu marido **Anderson**, agradeço por sua compreensão, apoio e paciência em muitos momentos juntos. Obrigada por me ensinar a lidar de forma mais leve com os problemas e dificuldades e por sempre acreditar em meu potencial. Sou grata por ter você em minha vida!

A minha irmã **Maressa**, agradeço por sempre estar ao meu lado me dando suporte nas dificuldades e me fazendo rir em muitos momentos vividos!

Ao meu cunhado **Brenner** por sua ajuda em muitos momentos, obrigada por sua amizade!

Ao **Colégio Paula Frassinetti** e a sua equipe pedagógica que me acolheram e me proporcionaram uma educação de qualidade.

A **todos os meus professores** desde a educação infantil até o ensino médio que contribuíram para minha formação moral e acadêmica, agradeço imensamente pela dedicação e amor em ensinar!

Ao **Centro Universitário Claretiano** e sua equipe de professores que foram responsáveis pela minha formação como Bióloga. Só tenho a agradecer pelos anos de muito estudo e preparo para a vida profissional.

Muito obrigada a todos!!

EPÍGRAFE

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”
Antoine Lavoisier.

RESUMO

Introdução: O incremento metabólico pós-prandial (SDA) é caracterizado por uma rápida elevação da taxa metabólica pós-prandial. O aumento do consumo de O₂ prossegue até atingir o seu pico, que pode ocorrer dias após a ingestão do alimento. Após o pico, há um declínio da taxa metabólica a nível similar ao padrão (repouso). As investigações a respeito dos mecanismos envolvidos durante o incremento metabólico pós-prandial da espécie *Lithobates catesbeianus* foram realizadas em regime constante de temperatura corporal, tal estabilidade difere do que realmente ocorre com estes animais, já que dependem da temperatura do ambiente para regular sua temperatura corporal. **Objetivo:** Analisar os efeitos da temperatura corporal na resposta metabólica pós-prandial da espécie *Lithobates catesbeianus* mantidas em três regimes de temperatura: 20°C constante, 25°C constante e oscilante, com ciclos diários, de 25°C na fase do dia e 20°C na fase da noite. **Materiais e Métodos:** Foram utilizadas 21 rãs da espécie *Lithobates catesbeianus* (rã-touro), com massa corporal média de 314 ± 10g. Utilizou-se o consumo de O₂ para determinar a taxa metabólica dos animais. Os animais foram alocados em três grupos distintos (n=7), dois grupos mantidos em temperaturas constantes de 20°C e 25°C (T-20 e T-25, respectivamente), e um grupo mantido em temperatura oscilante, com temperatura de 25°C na fase do dia e 20°C na fase da noite (T-oscilante). Os animais iniciaram o protocolo em jejum e após um período entre 48h e 72h da coleta da taxa metabólica de repouso estes foram alimentados com o equivalente a 10% de sua massa corporal e mantidos em análise de respirometria durante todo o processo de incremento metabólico pós-prandial, até o retorno dos níveis da taxa metabólica padrão de cada animal. **Resultados:** A alteração da temperatura não interferiu na taxa metabólica dos grupos T-20, T-25 e T-oscilante. Estes apresentaram valores similares da taxa metabólica de repouso, em cada uma das temperaturas. A taxa metabólica do grupo mantido sob T-oscilante, como esperado, foi maior na fase do dia (25°C) do que na fase da noite (20°C). A temperatura afetou o valor máximo do consumo de O₂ durante o incremento metabólico pós-prandial, de forma que o grupo T-25 atingiu um pico de VO₂ superior à T-20. Os animais do grupo T-oscilante tiveram aumento metabólico similar ao apresentado por T-25. O escopo metabólico seguiu o mesmo padrão. O tempo para atingir o pico de VO₂ foi similar entre os grupos experimentais. O grupo T-oscilante obteve um valor de coeficiente menor quando comparado ao grupo 25°C e maior quando comparado ao grupo 20°C. A temperatura teve grande efeito no tempo de duração do incremento metabólico pós-prandial nos animais do grupo T-oscilante, já que este apresentou menor duração, comparando-se aos grupos T-25 e T-20. O custo energético durante tal processo metabólico no grupo T-25 foi maior do que no grupo T-20, permanecendo alto mesmo com a oscilação de temperatura. Assim, o protocolo realizado sob temperatura oscilante promoveu um processo de incremento metabólico pós-prandial mais eficiente por ser mais rápido e com menor coeficiente. Assim, como a distribuição de energia foi diferente do ocorrido com os grupos mantidos em temperatura constante, acreditamos que a variação diária da temperatura corporal apresenta grande relevância para o desenvolvimento de pesquisas ecofisiológicas, quando há objetivo de retratar não os mecanismos relacionados ao SDA em si, mas as relações energéticas entre o animal e o meio.

Palavras-chave: Consumo de O₂, Incremento Metabólico Pós-Prandial, *Lithobates catesbeianus*, Rã-touro, SDA, Taxa metabólica, Variação da temperatura.

ABSTRACT

Introduction: The postprandial metabolic increment is characterized by a fast elevation in postprandial metabolic rate. The increase in O₂ consumption continues until reaching a peak of consumption, that may occur days after the ingestion of the food, in species that ingested large volumes. After the peak, there is a decrease in the metabolic rate to a similar level to the standard (rest). The investigations regarding the mechanisms involved during the postprandial metabolic increment (SDA) of the *Lithobates catesbeianus* species were performed under a constant regime of body temperature. Such stability differs from what actually occurs with these animals that depend on the temperature of the environment to regulate their body temperature.

Objective: To analyze the effects of body temperature on postprandial metabolic response (SDA) of the *Lithobates catesbeianus* species maintained at three temperature regimes: constant 20°C, constant 25°C and oscillating with daily cycles of 25°C in the daytime period and 20°C in the nighttime period.

Materials and methods: Twenty-one frogs of the species *Lithobates catesbeianus* (bullfrog) were used, with a mean body mass of 314 ± 10 g. O₂ consumption was used to determine the metabolic rate of the animals. The animals were allocated to three different groups (n = 7), two groups submitted to constant temperatures of 20°C and 25°C (T-20 and T-25, respectively), and the group submitted to oscillating temperature, 25°C in the daytime period and 20°C in the nighttime period (T-oscillating). The animals initiated the protocol in fasting and after for a period of 48 and 72 hours of collection of the resting metabolic rate they were fed the equivalent of 10% of their body mass and maintained in respirometry analysis until values were observed close to the baseline, individually.

Results: The change in the temperature did not interfere in the metabolic rate of the T-20, T-25 and T-oscillating groups. These presented similar values of the metabolic resting rate, at each of the temperatures, the metabolic rate of the group maintained under T-oscillating, as expected, was bigger in the daytime (25°C) than in the nighttime (20°C). The temperature affected the maximum value of the postprandial metabolic increment, so that the T-25 group had higher VO₂ peak compared to T-20. The animals in the T-oscillating group showed an increased metabolic increase similar to that presented by T-25. The metabolic scope followed the same pattern. The time to reach peak of VO₂ during SDA was similar between the experimental groups. The T-oscillating group showed lower values to coefficient compared to the 25°C group and higher when compared to the 20°C group. The T-oscillating group had a shorter SDA duration compared to T-25 and T-20. The energy cost of SDA in the T-25 group was higher than in the T-20 group, remaining high even with the temperature oscillation. Like this the protocol performed under oscillated temperature promoted a postprandial metabolic increment process (SDA) more efficient for being faster and with lowest coefficient. Just like the energy distribution was different than with groups kept in constant temperature, we believe than the daily variation of body temperature presents great relevance for the development of ecophysiological research when it is intended to portray, not the mechanism related to the SDA itself, but the energetic relationships between animal and environment.

Key-words: Bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, Metabolic rate, Postprandial Metabolic Increment, O₂ consumption, SDA, Temperature variation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do SDA	18
Figura 2 – Leituras registradas por Ibuttons	29
Figura 3 - Taxa metabólica padrão (TMP)	33
Figura 4 - Valor máximo do consumo de O ₂	34
Figura 5 - Razão entre a taxa metabólica e consumo máximo de O ₂	35
Figura 6 - Tempo para o alcance do pico VO ₂	36
Figura 7 - Custo energético do SDA	37
Figura 8 - Porcentagem da energia do alimento que foi utilizada no SDA	38
Figura 9 - Somatória do consumo total de O ₂ durante o SDA	39
Figura 10 - Duração do SDA	40
Figura 11 - Variação da taxa do consumo de O ₂ dos grupos durante o SDA.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
ATP	Trifosfato de adenosina
h	Horas
Kcal	Kilocaloria
Kg	Kilogramas
kJ	Kilojoules
Min	Minutos
Osc	Oscilante
SDA	Specific Dynamic Action
SNK	Student-Newmann-Kills
SPSS	Statistical Package for Special Sciences
T-20	Temperatura constante de 20°C
T-25	Temperatura constante de 25°C
TMB	Taxa metabólica basal
TMC	Taxa metabólica de campo
TMP	Taxa metabólica padrão
T-oscilante	Temperatura oscilante
VO ₂ padrão	Consumo de O ₂ para manutenção do organismo
VO ₂ pico	Valor máximo da taxa de consumo de O ₂ no período pós-prandial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 O metabolismo energético	14
2.2 Taxas metabólicas e suas medidas	15
2.3 O incremento metabólico pós-prandial – SDA	16
2.4 A espécie <i>Lithobates catesbeianus</i> e o SDA	20
3. JUSTIFICATIVA.....	22
4. HIPÓTESE	23
5. OBJETIVOS.....	24
5.1 Objetivo geral	24
5.2 Objetivos específicos.....	24
6. MATERIAIS	25
6.1 Considerações sobre o grupo animal utilizado	25
6.2 A rã-touro, <i>Lithobates catesbeianus</i>	25
7. MÉTODOS	28
7.1 Protocolos experimentais	28
7.1.1 Grupos experimentais	28
7.1.2 Determinação da temperatura do experimento.....	28
7.1.3 Incremento metabólico pós-prandial - SDA	30
7.1.4 Respirometria	30
7.2 Análise dos dados	32
8. RESULTADOS.....	33
9. DISCUSSÃO.....	42
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
11. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	47

1. INTRODUÇÃO

As investigações sobre os processos fisiológicos desencadeados após a alimentação tiveram início com os estudos de Lavoisier no século XVIII. Deles surgiram os primeiros relatos sobre o aumento da taxa metabólica do animal após a ingestão de alimento (FULTON e WILSON, 1930; MCCUE, 2006). Segundo McCue (2006), esta elevação da taxa metabólica recebeu o nome de “*spezifisch dynamischer wirkung*” pelo pesquisador alemão Max Rubner em 1890, sendo mais tarde traduzido para *Specific Dynamic Action* (SDA). Com o decorrer do tempo, o SDA passou a ser denominado como incremento metabólico pós-prandial (ANDRADE *et al.*, 2005; GAVIRA, 2013).

O incremento metabólico pós-prandial é caracterizado por uma rápida elevação da taxa metabólica pós-prandial. Tal elevação é viabilizada de forma aeróbia. O aumento do consumo de oxigênio (O₂) prossegue até o seu pico de consumo, que em ectotérmicos pode ocorrer em horas ou dias após a ingestão do alimento. Após o pico, há um declínio da taxa metabólica até o seu retorno a nível similar ao padrão (repouso) (MCCUE, 2006; SECOR *et al.*, 2009).

Ao longo do tempo, diversas hipóteses foram testadas para explicar os mecanismos fisiológicos ativados e envolvidos durante o incremento metabólico pós-prandial em uma grande diversidade de espécies de vertebrados e invertebrados (MCCUE, 2006). Em se tratando de vertebrados, o grupo dos anfíbios é um modelo animal muito explorado para investigações dos processos e dos mecanismos envolvidos no SDA (SECOR, WOOTEN E COX, 2007). Uma das características marcantes deste grupo, presente em muitas espécies, é a capacidade de ingestão de grandes quantidades de alimento, mesmo apresentando grandes alterações no suporte aeróbio (SECOR, 2009).

Somado a isto, os anfíbios são considerados indicadores sensíveis a diversos fatores ambientais (BLAUSTEIN, 1994). Sua susceptibilidade a fatores abióticos torna-os importantes indicadores ambientais. Esta característica traz questões a exequibilidade do incremento metabólico pós-prandial (SDA) no inconstante ambiente natural e também, questões quanto a representatividade de dados produzidos em condições laboratoriais constantes, para realização de inferências ecológicas.

Assim, investigações a respeito dos mecanismos relacionados aos processos ligados ao SDA, realizado em ambiente com variação na temperatura, podem ser relevantes para compreensão de tais aspectos. Tal relação e dependência do SDA aos fatores abióticos externos

não foi explorado até a presente data na espécie *Lithobates catesbeianus*. A constância em tais fatores é relevante em investigações mecanísticas, em ambiente laboratorial, mas não é algo vivenciado pelas espécies quando inserida em seu ambiente natural. Não obstante, também é importante conhecer como a temperatura, que representa grande influência na eficiência e na execução deste tipo de resposta metabólica, influencia processos extremos como o incremento metabólico pós-prandial.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O metabolismo energético

Os animais precisam de energia para realizar as funções vitais que garantem a sua sobrevivência. À dinâmica de provimento e transformação desta energia química deu-se o nome de metabolismo energético (SCHMIDT-NIELSEN, 2002). O metabolismo energético representa a soma total das reações químicas que envolvem produção ou consumo de ATP, ocorridas no organismo, sendo estas nomeadas como reações metabólicas. Tais reações se manifestam através de dois processos gerais: o anabolismo e o catabolismo (STANFIELD, 2014).

O anabolismo é um processo metabólico responsável pelo reparo, regeneração e crescimento do organismo, através da síntese de aminoácidos e produção de proteínas. Para que isso seja possível, este processo necessita de energia química para realizar tais funções, sendo esta derivada dos processos desencadeados pelo catabolismo. O catabolismo é responsável pelo fornecimento da energia química utilizada no anabolismo. Para tal, os compostos alimentares ingeridos pelo animal são quebrados em partes menores por meio das etapas da digestão alimentar e absorção dos nutrientes. Estes nutrientes a princípio são absorvidos por estruturas especializadas denominadas enterócitos (células epiteliais no intestino), posteriormente são disponibilizados as demais células do organismo através da corrente sanguínea. No catabolismo, há liberação da energia química que será utilizada como combustível para o trabalho celular. Parte dessa energia química é estocada como compostos de fosfato de alta energia, conhecido como trifosfato de adenosina (ATP), utilizada como fonte comum de energia para as reações do organismo vivo. Uma outra parte dessa energia química é convertida em calor (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Existem animais que obtêm energia principalmente por meio da oxidação dos alimentos. O grupo dos vertebrados possui notoriamente, tal perfil metabólico, de forma que em tais animais, a quantidade de oxigênio que eles consomem pode ser usada como uma medida do metabolismo energético (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

A conversão de energia química em calor, que ocorre a cada mobilização de ATP para o catabolismo ou anabolismo, é considerada uma medida de taxa metabólica (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011). Assim, pode-se usar a taxa de calor produzido como um indicador do metabolismo energético do organismo. Outro método utilizado para aferir a taxa metabólica, é a determinação da taxa de consumo de O_2 que é utilizado nos processos de oxidação. Há ainda, a possibilidade de calcular a diferença do valor energético do alimento

ingerido e o valor de todos os excrementos produzido pelo espécime em estudo (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

A medida da taxa metabólica é importante para o entendimento a respeito do custo energético de uma atividade realizada pelo animal, por exemplo: crescimento e reparo de tecidos; trabalho interno químico, osmótico, elétrico e mecânico; trabalho externo para locomoção, comunicação, reprodução entre outros. Já os fatores que influenciam na taxa metabólica de um animal são: temperatura corporal e ambiental; massa corporal; estado reprodutivo e atividades realizadas; horas do dia; estação do ano; idade; sexo; estresse e tipo de alimentação. Dentre os fatores listados, a temperatura corporal do animal possui grande efeito no metabolismo energético, em razão de sua influência direta nas reações químicas, afetando todos os passos bioquímicos envolvidos no metabolismo (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

2.2 Taxas metabólicas e suas medidas

Para se realizar a medida da taxa metabólica, é preciso que se considere os níveis metabólicos ou estados, que podem afetar as suas medidas. A taxa metabólica pode ser classificada como taxa metabólica padrão, basal ou de campo (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

A taxa metabólica basal (TMB) representa a taxa estável do metabolismo energético, medida em aves e mamíferos em condições de estresse ambiental e fisiológico mínimo, após o término dos processos digestivos e absorptivos do animal. A taxa metabólica padrão (TMP) é definida como a taxa metabólica do animal em repouso e jejum sob certo regime de temperatura corporal, medida nos animais ectotérmicos (aqueles que apresentam temperatura corporal instável, dependente da temperatura do ambiente). A taxa metabólica de campo (TMC) se refere a taxa média de energia utilizada pelo animal quando este executa suas atividades em seu ambiente natural, podendo estas variar da inatividade completa a um esforço máximo (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Os métodos utilizados para medir a taxa metabólica do organismo são por: calorimetria direta e calorimetria indireta. Esta última é um tipo de medida indireta da taxa metabólica executada a partir do cálculo da troca respiratória do animal. A calorimetria direta, é mais utilizada em espécimes que apresentam taxa metabólica mais elevada, entre elas aves e mamíferos. Este método corresponde a medições da taxa metabólica do animal realizada através de um calorímetro. O animal é colocado em uma câmara, onde nela a perda de calor pelo mesmo

é aferida através da elevação da temperatura de uma quantidade de água conhecida usada para receber este calor. Dessa forma a perda total de calor pelo animal é definida pela soma do ganho de calor pela água mais o calor latente presente no vapor d'água do ar expirado e da umidade evaporada pela pele. O resultado é descrito em calorias ou quilocalorias por hora (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Na calorimetria indireta, a taxa metabólica é estimada pela quantidade de energia química consumida menos a quantidade de energia química perdida. Por esta razão, a energia química representa o conteúdo de alimento consumido pelo animal e a perda de energia, que corresponde a energia que não foi absorvida pelo organismo, que está presente nas fezes e urina produzidas. Para se aferir o conteúdo energético do alimento e dos produtos de excreção, realiza-se a combustão destes materiais através de bomba calorimétrica (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Além do calor que é produzido pela energia proveniente das moléculas do alimento, existem outras variáveis que possibilitam uma medição indireta da taxa metabólica. Uma delas é a medida da captação de O_2 e de liberação de CO_2 , expressas como moles de gás por hora. Utiliza-se para tal a respirometria, método de análise de gás que fornece dados a respeito das trocas respiratórias realizadas pelo animal. Este método é aplicado através de dois sistemas: respirometria fechada e aberta, sendo possível a utilização dos dois sistemas juntos em um mesmo experimento. Na respirometria fechada o animal é colocado em uma câmara, a quantidade de O_2 consumido e de CO_2 produzido são monitorados por certo intervalo de tempo. O consumo de O_2 é determinado através de seu decréscimo no interior da câmara. O sistema de respirometria aberto utiliza técnicas analíticas de fluxo de massa, podendo ser de água ou gás. Nesse sistema, o gás ou a água que entra ou sai da câmara é monitorado, e a diferença nas concentrações é utilizada para o cálculo das trocas respiratórias (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

2.3 O incremento metabólico pós-prandial – SDA

O incremento metabólico pós-prandial (SDA) representa a taxa metabólica do animal que se manifesta logo após a ingestão alimentar. Corresponde a uma elevação do metabolismo em decorrência do aumento do consumo de O_2 durante o processo de digestão e assimilação dos alimentos. O pesquisador Max Rubner denominou esta elevação do metabolismo como: Specific Dynamic Action (SDA), termo traduzido para Ação da Dinâmica Específica (MCCUE, 2006). O incremento metabólico pós-prandial tem sido categorizado, teorizado e estudado

experimentalmente por mais de 200 anos, em mais de 250 espécies, entre invertebrados e vertebrados. Pesquisas relataram a ocorrência do SDA em crustáceos (WHITELEY *et al.*, 2001), peixes (JOBILING, 1981; BEAMISH e TRIPPEL, 1990), anfíbios (ANDRADE *et al.*, 2005; SECOR *et al.*, 2007; SECOR *et al.*, 2008), répteis (ANDRADE *et al.*, 2005; WANG, BUSK E OVERGAARD, 2001; MCCUE *et al.*, 2005); ruminantes (BLAXTER, 1989), aves (SWENNEN *et al.*, 2007); roedores (MCCUE *et al.*, 2014), e humanos (LABAYEN, *et al.*, 1999). Em peixes, anfíbios e répteis a magnitude da taxa metabólica pós-prandial pode corresponder a múltiplos da taxa metabólica padrão, em virtude do aumento de demanda para os processos de digestão, absorção e incremento (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Os estudos referentes ao SDA deram origem a três grandes áreas de investigação. A primeira área busca elucidar o mecanismo do SDA em animais considerados modelos para esse tipo de estudo, capazes de ingerir grandes volumes de alimento em um único evento alimentar, como ocorre em espécies de serpentes: pítons, cascavéis, jiboias e em espécies de anfíbios, em especial sapos e rãs. A segunda, refere-se à caracterização da resposta do SDA em novas espécies. A terceira, está relacionada à exploração do potencial ecológico e do significado evolutivo do SDA em termos de capacidade de mobilização de energia e ou balanço/ganho energético para o animal (MCCUE, 2006).

O SDA se manifesta durante as etapas fisiológicas da digestão alimentar, conhecidas como: pré-absortivas, absorptiva e pós-absortivas (WILSON e CULIK, 1991). Considerando a fase pré-absortiva destaca-se as seguintes atividades: peristaltismo intestinal e secreção glandular (BORSOOK, 1935; TANDLER e BEAMISH, 1979); secreção de enzimas (GAWECKI e JESZKA, 1978; COULSON e HERNANDEZ, 1979; OWEN, 2001); ajustes do pH das câmaras digestórias, absorção ativa de compostos da alimentação (STARCK *et al.*, 2004; ANDRADE *et al.*, 2005), catabolismo de proteínas (IWATA, 1970; PIERCE e WISSING, 1974; COULSON e HERNANDEZ, 1979; HOULIHAN, 1991) e regulação do pH sanguíneo (SECOR e DIAMOND, 1995; OWEN, 2001). A fase seguinte, a absorptiva, envolve o custo energético relacionado com a absorção intestinal (SECOR, STEIN E DIAMOND, 1994; SECOR, 2003; MCCUE *et al.*, 2006) e o transporte de nutrientes através das membranas das cavidades digestória e secreção de hormônios (BAUMMANN e HUNT, 1925). Por fim, a fase pós-absortiva envolve os custos relacionados à síntese de novos compostos e estruturas, especialmente proteicas (GRISOLIA e KENNEDY, 1965; GARROW e HAWES, 1972; COULSON e HERNANDEZ, 1979; BROWN e CAMERON, 1991 a,b; HOULIHAN, 1991; WHITNEY *et al.*, 2001; MCCUE *et al.*, 2006), produção de glicogênio (ADAMS, 1926;

WILSON e LEWIS, 1930; WILHELMJ, 1935), produção de uréia (TERROINE e BONNET, 1929; BORSOOK e KEIGHLEY, 1933; BRODY 1945) e excreção renal (WISHART, 1928; BORSOOK e WINEGARDEN, 1931; DOCK, 1934; BORSOOK, 1936; BRODY, 1935; KALARANI e DAVIES, 1994).

A resposta metabólica pós-prandial do animal promove uma elevação da taxa metabólica padrão/basal (repouso) (TMP) devido ao aumento do consumo de O_2 destinado à digestão alimentar. Essa elevação do consumo de O_2 é gradual e pode atingir valor máximo em horas ou dias, a depender da massa ingerida, tamanho do animal e sua temperatura corporal. Após isto, ocorre um declínio da taxa metabólica pós-prandial do animal até este retornar ao estado de jejum (Figura 1).

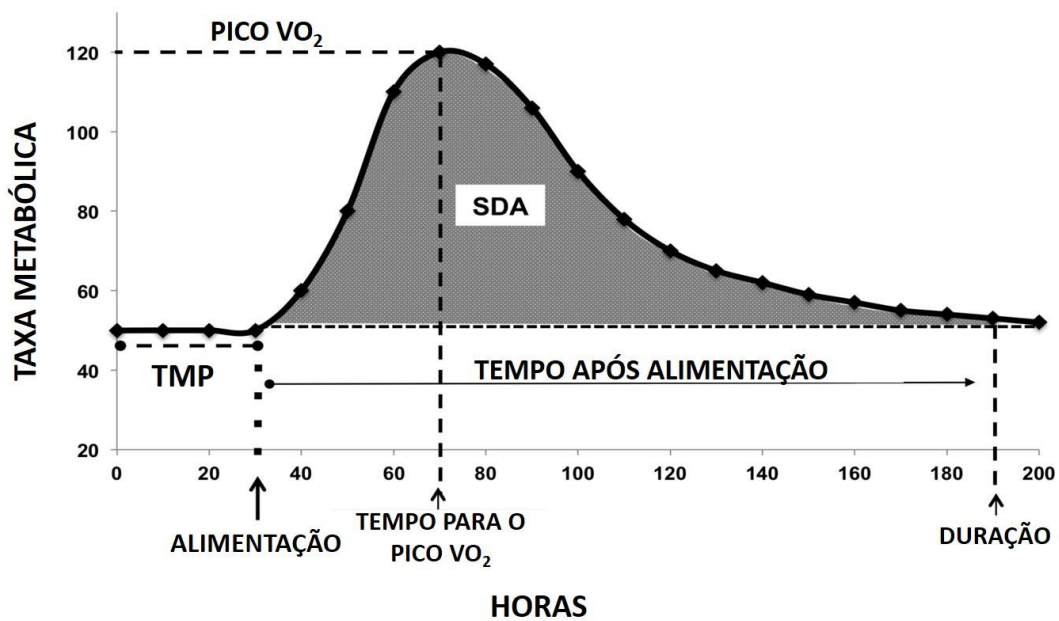


Figura 1 – Representação esquemática da progressão das alterações metabólicas ao longo do tempo durante o incremento metabólico pós-prandial (SDA) com a indicação das variáveis envolvidas. Esquema adaptado de SECOR (2009).

Para a caracterização do SDA, algumas variáveis são utilizadas como referência para avaliação quantitativa do processo (Figura 1):

- taxa metabólica padrão (TMP) – medida metabólica referente ao mínimo de energia necessária para manutenção funcional do organismo;

- massa relativa do alimento ingerido – medida da massa de alimento ingerido em relação a massa do animal que o ingeriu;
- energia do alimento – valor energético por grama de alimento ingerido;
- $\dot{V}O_2$ pico – valor máximo da taxa de consumo de O_2 no período pós-prandial;
- tempo para o pico – duração de tempo entre a ingestão do alimento até o alcance do pico de consumo de O_2 durante o SDA;
- escopo – representa o aumento relativo do metabolismo aeróbio para efetivação do SDA; Em diversas espécies, o escopo metabólico, diferença entre a taxa metabólica aeróbia padrão e a taxa metabólica máxima, está associado ao valor do pico do VO_2 .
- duração – tempo despendido durante a ocorrência do SDA;
- custo energético do SDA – energia despendida pelo animal durante o SDA acima do valor estimado para a manutenção do animal em condição padrão, na temperatura do SDA;
- coeficiente – valor representativo do montante de energia do alimento ingerido que foi despendido durante o SDA. O valor do coeficiente é calculado dividindo-se o valor do custo energético do SDA pelo valor energético do alimento ingerido.

Diversos estudos mostram que parâmetros do SDA, como magnitude, duração, pico, tempo para pico e custo energético são afetados pela quantidade e valor calórico do alimento ingerido. Desta forma, a magnitude total do SDA depende da massa relativa da presa (MUIR e NIIMI, 1972; JANES e CHAPPELL, 1995; SECOR e PHILLIPS, 1997; HOPKINS *et al.*, 1999; SECOR, 2003; ROE *et al.*, 2004). Pesquisas realizadas com serpentes mostraram que durante a ocorrência do SDA, alterações morfológicas do trato digestório como: hipertrofia (aumento) do intestino e alongamento de suas microvilosidades (estruturas responsáveis pela absorção de nutrientes) ocorrem, em virtude da grande quantidade de alimento que estes animais são capazes de ingerir. Tais alterações são consideradas adaptações fisiológicas desenvolvidas pelo organismo, no intuito de minimizar o custo energético do animal relacionadas com as atividades digestivas e absorptivas, durante a resposta metabólica pós-prandial (SECOR, 1995; ANDRADE, CRUZ-NETO E ABE, 1997; WANG *et al.*, 2003; STARCK *et al.*, 2004; PAN *et al.*, 2005b; SECOR, 2009). Ainda, baseado nesses estudos, foi observado que durante o SDA há ocorrências de outras modificações fisiológicas nestes indivíduos tais como: distribuição sanguínea nas cavidades digestórias e alterações do balanço ácido-base (WANG *et al.*, 2006; SECOR, 2009) voltadas também para a redução do custo energético do organismo (TAYLOR e PYE, 1966; WILSON AND CULIK, 1991; BOYCE e CLARKE, 1997; RADFORT, MARSDEN E DAVISON, 2004; FU, XIE e CAE, 2005; JORDAN e STEFFENSEN, 2005). Aliado aos fatores, quantidade de alimento e conteúdo calórico, a temperatura corporal também

exerce grande influência durante a ocorrência do SDA, especialmente em se tratando de animais ectotérmicos (MCCUE, 2006; SECOR, WOOTEN E COX, 2007; SECOR, 2009), que apresentam uma variação da taxa metabólica em virtude da oscilação da sua temperatura corporal, que também é influenciada pela temperatura ambiental (SECOR, 2009).

Sabe-se que a elevação na temperatura pode acelerar a maioria dos processos fisiológicos do organismo. Assim, oscilações na temperatura corporal de indivíduos ectotérmicos, como anfíbios e répteis, influenciam na taxa metabólica do animal, no custo energético despendido pelo organismo durante o SDA, no valor do pico do VO_2 , no tempo para alcançar o pico e na duração do SDA (MACHIDA, 1981; POWELL, MANSFIELD-JONES E GATTEN, 1999; WHITELEY *et al.*, 2001; ROBERTSON, MEAGOR E TAYLOR, 2002; SECOR AND FAULKNER, 2002; WANG *et al.*, 2003; ZAIDAN AND BEAUPRE, 2003; MCCUE, 2006;). Estudos realizados em grupos de anfíbios que foram expostos a temperatura ambiente de 20°, 25° e 30°C, em regime constante, exibiram alterações no perfil metabólico pós-prandial (SDA). Nas espécies *Bombina orientalis*, *Bufo cognatus*, *Dyscophus antongilli*, *Hyla cinerea*, *Kassina maculata* e *Lithobates catesbeianus* a elevação da temperatura corporal resultou na elevação da TMP e no pico do VO_2 . Em relação ao custo energético do SDA, o aumento da temperatura corporal das espécies *Bombina orientalis*, *Dyscophus antongilli*, *Hyla cinerea* e *Kassina maculata*, resultou em maior gasto energético do animal durante a realização do SDA. Frente à elevação de temperatura corporal, o SDA tem menor duração. Nas espécies *Bufo cognatus* e *Dyscophus antongilli* o SDA a 20°C teve duração de 9 dias, enquanto que a 30°C, 5 dias. O mesmo foi evidenciado nas espécies *Hyla cinerea* e *Rana catesbeiana*, a temperatura de 20°C, promoveu um SDA com duração de 6 e 8 dias, respectivamente; e a temperatura de 30°C, de 4 dias para ambas as espécies (SECOR, WOOTEN E COX, 2007). Tais informações mostram o papel influenciador da temperatura na resposta metabólica pós-prandial em várias espécies de anfíbios.

2.4 A espécie *Lithobates catesbeianus* e o SDA

A temperatura corporal influencia na dinâmica e a magnitude do incremento metabólico pós-prandial (SDA) da espécie *Lithobates catesbeianus*. Segundo Secor, Wooten e Cox (2007), a elevação da temperatura corporal destes animais, desencadeou um aumento na taxa metabólica e no pico do VO_2 . O SDA apresentou menor duração quando realizado em maior temperatura. Animais que apresentaram temperatura corporal de 20°C realizaram o SDA em 8 dias. Quando houve uma elevação de 5°C na temperatura corporal dos animais (de 20°C para

25°C), o SDA foi realizado em 6 dias. Um terceiro grupo da espécie submetido a temperatura de 30°C, obteve uma duração ainda menor do SDA, sendo este finalizado em 4 dias.

O custo energético do SDA foi menor nos animais que apresentaram temperatura corporal de 20°C e maior nos animais submetidos a temperatura de 25°C. É importante ressaltar que os resultados citados acima foram oriundos de estudos desenvolvidos sob temperatura constante (SECOR, WOOTEN E COX, 2007).

A variação da quantidade de alimento ingerido também promove alterações no valor do pico do VO_2 , na duração e no custo energético do SDA na espécie *Lithobates catesbeianus*. Animais com temperatura corporal elevada (30°C) que ingeriram porções alimentares equivalentes entre 2,5% a 35% (equivalente à sua massa corporal), exibiram variações na magnitude e na dinâmica dos processos envolvidos no incremento metabólico pós-prandial (SDA). Os animais que ingeriram uma maior quantidade alimentar, demonstraram aumento no pico do VO_2 e no custo energético do SDA, e diminuição na duração da resposta pós-prandial (SECOR, WOOTEN E COX, 2007).

Para a ingestão de grandes porções alimentares, há a necessidade do desenvolvimento de mecanismos para o controle cardiovascular, respiratório, elevação da capacidade aeróbia, balanço ácido-base, com grande escopo e plasticidade para suportar prover suporte fisiológico durante o SDA (LILLYWHITE *et. al.*, 1973; GRENNE, 1983, 1997; WITTERS e SIEVERT, 2001). Sendo assim, os custos energéticos associados aos eventos decorrentes da alimentação são importantes para o estudo e compreensão dos processos fisiológicos, regulação desses processos, suas capacidades e seus limites (ANDRADE, 2005).

Perante o que foi descrito, o SDA apresenta grande relevância para maiores investigações voltadas para os aspectos fisiológicos que ocorrem durante situações extremas. Seu estudo é especialmente relevante em espécies ectotérmicas que apresentam adaptações para a ingestão de grandes presas. Portanto, existe grande relevância em se compreender os processos ecofisiológicos e potencialidades essenciais para a sobrevivência das espécies (MCCUE, 2006). Contudo, no habitat natural desses animais, a temperatura não é constante, dessa forma, conhecer sobre a influência da temperatura oscilante no organismo da espécie em questão, pode fornecer informações mais precisas referente aos seus processos metabólicos.

3. JUSTIFICATIVA

As investigações realizadas a respeito dos mecanismos envolvidos durante o incremento metabólico pós-prandial (SDA) da espécie *Lithobates catesbeianus* foram realizados em regime constante de temperatura corporal. Tal estabilidade difere do que realmente ocorre com estes animais que dependem da temperatura do ambiente para regular sua temperatura corporal. Assim, há aspectos relacionados à efetiva representatividade deste tipo de estudo para inferências ecofisiológicas. Possivelmente, para que estudos funcionais a respeito do SDA sejam representativos e permitam análises ecofisiológicas relevantes, eles provavelmente precisam simular ciclos de variação de sua temperatura corporal dentro de uma faixa do gradiente térmico que a espécie apresenta. Perante isso, este projeto traz como inovação a utilização de um regime de variação diária da temperatura do ambiente, promovendo assim a oscilação da temperatura corporal da espécie *Lithobates catesbeianus*, buscando elucidar as variações térmicas que este animal está sujeito.

4. HIPÓTESE

Com base no que foi descrito, levantou-se as seguintes hipóteses: (1) o perfil metabólico pós-prandial da espécie *Lithobates catesbeianus* apresenta uma correlação com a temperatura; (2) quando executado sob regime de temperatura oscilante produzirá uma dinâmica e magnitude da resposta metabólica pós-prandial diferente da desencadeada sob temperatura constante.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

O presente estudo tem o objetivo de analisar os efeitos da temperatura corporal no incremento metabólico pós-prandial (SDA) da espécie *Lithobates catesbeianus*, mantidas sob três regimes de temperatura: constante de 20°C, constante de 25°C e oscilante (com ciclos diários de 25°C durante a fase diurna e 20°C durante a fase noturna).

5.2 Objetivos específicos

Analisar o efeito desencadeado pelos três regimes de temperatura nas variáveis utilizadas para quantificar a resposta metabólica pós-prandial:

- a) VO₂ padrão;
- b) VO₂ pico;
- c) tempo para alcance do VO₂ pico;
- d) duração do SDA;
- e) escopo metabólico (VO₂ pico/VO₂ padrão);
- f) custo energético do SDA;
- g) coeficiente do SDA (%).

6. MATERIAIS

6.1 Considerações sobre o grupo animal utilizado

Este grupo apresenta, em sua maioria, um ciclo de vida denominado bifásico em razão da existência de duas fases de desenvolvimento do indivíduo, a fase larval e a fase adulta. A fase larval acontece em meio aquático e a adulta, também conhecida como pós-metamórfica, ocorre em ambiente terrestre. Durante o desenvolvimento em meio aquático, o ovo fecundado torna-se uma larva, denominada girino. Este indivíduo tem vida aquática, apresentando brânquias para respiração e cauda para natação. Cabe aqui salientar que outras especializações podem ser exibidas pelos girinos em decorrência do habitat e das diferentes dietas alimentares, que variam de espécie para espécie. Girinos arbóreos apresentam cauda longa, corpo afilado e vivem nas folhas de plantas epífitas, como as bromélias. Já os planctônicos possuem estrutura bucal mais inclinada para cima, pois se alimentam de microrganismos localizados na superfície da água. Existem também girinos fixadores, estes apresentam estrutura bucal no formato de ventosa possibilitando a sua fixação em substratos recobertos por limo, que lhe serve de alimento. Outras espécies são carnívoras, desta forma apresentam boca mais desenvolvida, podendo se alimentar de larvas e pequenos insetos. Quando adulta, a rã touro apresenta dieta diversificada, podendo se alimentar desde pequenos invertebrados até aves e mamíferos (LIMA E AGOSTINHO, 1988).

Na fase adulta os anfíbios dependem da respiração pulmonar e cutânea, sendo muito suscetíveis a altas taxas de perda evaporativa de água pela pele, desta forma, dependem de ambientes úmidos para sobreviverem (HADDAD, C.F.B, 2018). Segundo Braga (2001), algumas espécies deste grupo apresentam resistência a grandes variações relacionadas a tolerância térmica, o que possibilitou aclimatação em diferentes ambientes.

6.2 A rã-touro, *Lithobates catesbeianus*

Para a realização desta pesquisa, foi utilizado animais da espécie de anfíbio conhecido popularmente como rã-touro, *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802). A rã touro é um ranídeo aquático nativo da região leste dos Estados Unidos e sudeste do Canadá, que foi introduzida em

vários países, entre eles: Brasil, Venezuela, Argentina, Colômbia, Uruguai, Equador. No Brasil a espécie pode ser encontrada em mais de 130 municípios (USP, 2019).

Taxonomia da rã-touro:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Amphibia

Ordem: Anura

Família: Ranidae

Gênero: *Lithobates*

Espécie: *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802)

Segundo Cunha e Delariva (2009), no século XX, a rã - touro foi introduzida em várias regiões do mundo por motivos comerciais, em virtude da carne e couro, muitos países passaram a explorar a criação desta espécie. Devido a tal potencial econômico, nas últimas décadas, sua introdução ocorreu em mais de 40 países (FICETOLA *et al.*, 2008). No Brasil, a espécie foi introduzida na década de 30, quando foram trazidos seus primeiros exemplares. Na década de 40 a rancultura no país ganhou força graças as condições climáticas tropicais e subtropicais do Brasil que contribuíram para o desenvolvimento e reprodução da espécie. Exibindo esta um melhoramento no desempenho metabólico em razão do aumento da temperatura do ambiente, característica responsável pela adaptação destes animais em regiões com temperaturas elevadas. Segundo Braga e Lima (2001) a rã touro, assim como todos os anfíbios é um animal ectotérmico, isso significa que seu metabolismo depende da temperatura ambiente. Tal característica deve exercer influência nos processos metabólicos envolvidos durante o incremento metabólico pós-prandial (SDA).

A rã touro é capaz de atingir grande tamanho corporal. Seus girinos são maiores e apresentam um estágio larval mais longo em comparação a outras espécies (CUNHA E DELARIVA, 2009). A espécie *Lithobates catesbeianus* (rã-touro) apresenta desenvolvimento em estágios, o larval (girino), o pós-metamórfico e a fase adulta do indivíduo. Durante a fase larval, que acontece em meio aquático, o girino possui estruturas adaptadas à sobrevivência na água, as brânquias, responsáveis pelas trocas gasosas e uma cauda para natação. Durante esta fase, o girino possui uma dieta alimentar muito variada, podendo se alimentar inclusive de outros girinos. Na transição da fase larval para a fase pós-metamórfica, o animal passa pelo processo de metamorfose que provoca as seguintes modificações: desaparecimento das

brânquias, surgimento dos pulmões, formação das patas e apoptose (morte celular programada) das células que constituem o tecido da cauda. A espécie atinge a fase adulta quando apresenta alterações morfológicas e hormonais destinadas a reprodução. Nesta fase a rã-touro apresenta dimorfismo sexual, diferenças morfológicas e comportamentais entre machos e fêmeas. Os machos apresentam uma membrana timpânica de diâmetro maior do que o olho e de coloração mais escurecida; polegar intumescido, adquirindo cor mais escura no período reprodutivo, que contribui para o amplexo nupcial (acasalamento); região gular (papo) mais amarelada; emite sons típicos para atrair a fêmea para o acasalamento. Já as fêmeas, apresentam membrana timpânica menor que os machos; no período reprodutivo, ocorre um crescimento do abdômen em razão da produção de óvulos; região gular esbranquiçada e não emite sons para acasalamento (LIMA E AGOSTINHO, 1988).

7. MÉTODOS

7.1 Protocolos experimentais

7.1.1 Grupos experimentais

Para a execução dos protocolos experimentais, foram utilizadas 21 rãs da espécie *Lithobates catesbeianus* (rã-touro), com massa corporal média de $314 \pm 10\text{g}$. Os animais foram adquiridos de um ranário comercial próximo a cidade de São Carlos. Após serem entregues no Laboratório de Biologia Experimental da Universidade Federal de São Carlos, os animais foram mantidos em um tanque de 1000L, a fio d'água, contendo partes secas e úmidas com renovação de água constante. O tanque se localizava em uma área externa ao laboratório, expondo os animais a variações climáticas naturais de temperatura e luminosidade (exceto chuva). Os animais foram alimentados com ração comercial tendo acesso livre a água. A água tinha renovação constante do sistema de reaproveitamento do biotério, onde era filtrada e aquecida à 25°C. A temperatura da água no tanque, pelo pouco volume presente, comumente estava em valor inferior, cerca de 20°C. No tanque havia acesso à fonte de calor, durante o dia (lâmpada de filamento), sobre parte da área seca, que poderia ser utilizada conforme demanda, por cada espécime. Todos os procedimentos deste estudo foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética da UFSCar (CEUA/UFSCar).

7.1.2 Determinação da temperatura do experimento

As temperaturas utilizadas neste trabalho de pesquisa foram as mesmas utilizadas por Amaral (2016), sendo estas determinadas através da realização de um experimento em julho de 2015 no Laboratório de Biologia Experimental. Neste experimento 12 rãs receberam a implantação de um iButton, (termômetro digital que registra a temperatura do ambiente ou do animal/objeto ao qual está conectado; sua leitura varia de -55°C a +110°C) a implantação ocorreu de modo cirúrgico, por via intraperitoneal. Após a cirurgia, as rãs ficaram sob observação por um período entre 24 e 48 horas sendo posteriormente devolvidas ao tanque de manutenção. Passado o período de recuperação, 6 animais foram alimentados com carne bovina

moída (massa do alimento foi equivalente a 5% da massa corporal do animal) e os outros 6 ficaram em jejum. Dois iButtons também foram colocados dentro do tanque de manutenção: 1 dentro da água e 1 fora da água (embaixo da lâmpada de aquecimento). Após um registro de 15 dias, os animais foram submetidos a eutanásia sendo realizado a coleta dos dados referentes as medidas de temperatura registradas pelos iButtons (a cada 10 minutos). Através dessa coleta foi constatado que a faixa de temperatura selecionada pelos animais correspondia ao intervalo de temperatura entre 20° e 25°C.

Com esses resultados, utilizou-se as temperaturas de 20°C constante (T-20), 25°C constante (T-25) e oscilante [T-oscilante (25°C dia e 20°C noite)], para a realização deste presente trabalho de pesquisa. A figura 2, ilustra os valores da temperatura de dentro da água do tanque de manutenção, embaixo da luz de aquecimento e de um animal em processo de SDA (dados registrados pelos iButtons utilizados).

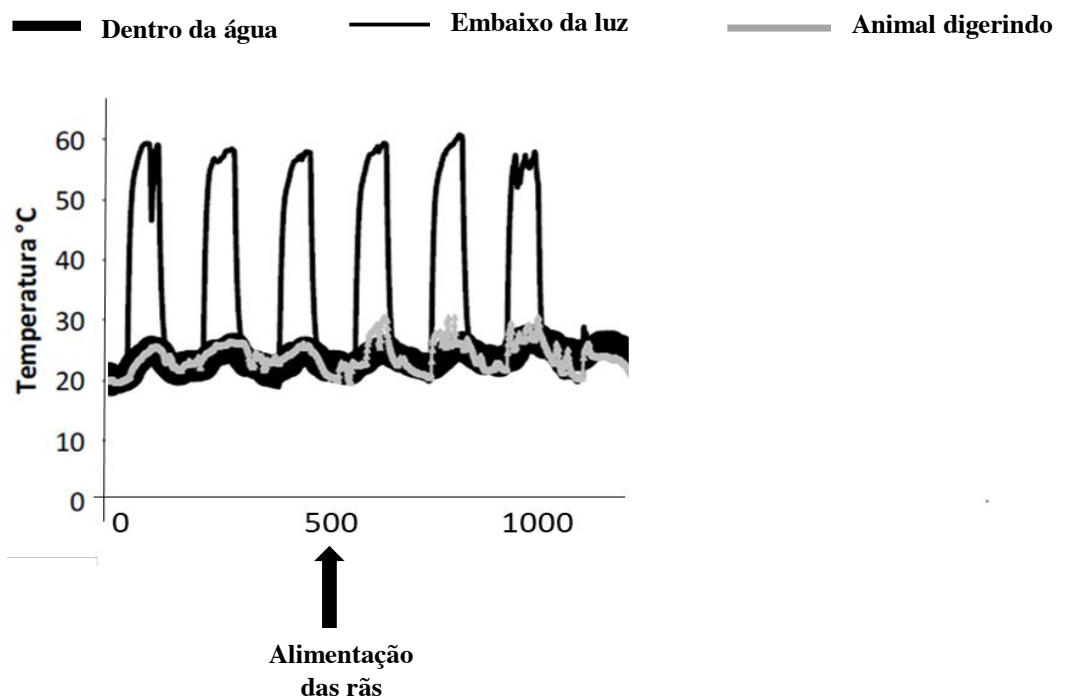


Figura 2 – Medidas de temperatura ao longo do tempo, registradas por Ibuttons dispostos na água do tanque de manutenção das rãs; embaixo da fonte artificial de calor; e na cavidade peritoneal de uma rã em processo de digestão. Fonte: adaptado de Amaral (2016).

7.1.3 Incremento metabólico pós-prandial - SDA

A resposta metabólica pós-prandial foi mensurada através da quantificação da taxa de consumo de O₂ das rãs, antes e depois da ingestão alimentar. Para a realização do protocolo experimental, os animais foram distribuídos em três grupos (n=7, cada). No primeiro grupo, T-oscilante, massa corporal de 345±5g, os animais foram submetidos a uma temperatura ambiente em regime oscilante (25°C na fase diurna e 20°C na fase noturna). No segundo grupo, T-25, massa corporal de 301±4g, os animais foram submetidos a uma temperatura ambiente constante de 25°C por todo o período experimental. No terceiro grupo, T-20, massa corporal de 295±7g, os animais foram submetidos a uma temperatura ambiente constante de 20°C. Importante salientar que os animais ficaram em jejum por 7 dias, antes do início dos experimentos.

As medidas metabólicas foram realizadas por respirometria fechada intermitente, com aferição do decréscimo de O₂ em períodos de fechamento do sistema, que possuíam 10 minutos de duração. Foi utilizado sistema automatizado para aquisição de parâmetros, controle de ciclos e registro (Sable Systems). Para início, cada animal foi pesado e acomodado individualmente em câmara de respirometria, sendo estas mantidas em câmara climática para o controle da temperatura experimental de cada grupo. A taxa de consumo de O₂ dos animais (VO₂ padrão) foi aferida continuamente, por um o período de 48 a 72 horas. Após este período, cada rã foi alimentada com massa de acém cru moído (137 Kcal/100g, Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO) correspondente a 10% de sua própria massa corporal. Após alimentação, houve reinício das medidas de consumo de oxigênio que perduraram por todo incremento metabólico pós-prandial, até retorno do metabolismo aos valores padrão.

7.1.4 Respirometria

Conforme mencionado anteriormente, as taxas de consumo de O₂ foram calculadas a partir do decréscimo da %O₂ na câmara de respirometria em um sistema fechado intermitente (utilização de um sistema combinado de respirometria, apresentando fase aberta e fechada), seguindo a metodologia utilizada por Leite et al. (2013) e Gavira e Andrade (2013). Para o procedimento, as rãs foram colocadas em câmaras de respirometria hermeticamente fechadas de volume apropriado (997,36 mL a 2.150,27 mL), promovendo bem-estar aos animais durante a coleta de dados. Cada câmara tinha renovação de ar controlada na fase aberta do processo (200 mL/min). Na fase fechada, o fluxo de ar para a câmara permanecia constante, mas o ar não era renovado. Ele recirculava entre as câmara e equipamentos para secagem do ar e

leitura/registro de sinal de O₂ (Sable Systems PA-10 - taxa de amostragem de 1/s). Com o software Expedata (Sable systems), o sistema controlava automaticamente a leitura sequencial das câmaras do respirômetro, de forma que vários animais eram medidos em sequência na mesma condição, sem interferência do pesquisador. Esse registro sequencial do decaimento na porcentagem de O₂ na câmara de cada animal foi realizado durante todo o período da resposta metabólica durante o SDA. Quando o valor de taxa metabólica específica após SDA, calculado a partir do decaimento, se aproximou do nível inicial da coleta de dados (taxa metabólica padrão), antes da alimentação dos animais, o protocolo experimental era finalizado.

A utilização do consumo de O₂ para se determinar a taxa metabólica dos animais utilizados na pesquisa, apoiou-se na premissa de que estes apresentam respiração aeróbia, perante isso, as reações químicas do organismo ocorrem na presença de O₂, produzindo uma quantidade de calor (energia liberada) constante, independente do substrato metabólico. Aliado a esta premissa, está o fato dos estoques de O₂ serem pequenos, assim, o consumo minuto a minuto representa com precisão a taxa metabólica dos animais (KATHLEEN, RANDALL, BURGGREN, 2011).

Os métodos utilizados para os cálculos dos parâmetros metabólicos e do SDA seguiram a bibliografia corrente mais atual para este tipo de análise (MCCUE, 2006; SECOR *et al.*, 2009; GAVIRA e ANDRADE, 2013; LEITE *et al.* 2013). A taxa metabólica padrão (VO₂ padrão) dos animais foi calculada por meio da média do VO₂ consumido durante o período anterior à alimentação. O pico do metabolismo pós-prandial (VO₂ pico) foi definido como o valor máximo de VO₂ após a ingestão de alimento. O tempo para o pico metabólico correspondeu à duração entre a alimentação e o momento de maior valor de VO₂ durante o SDA. A duração do SDA correspondeu ao tempo decorrente entre o evento alimentar, seguindo por aumento de metabolismo, até o retorno da taxa metabólica a valores padrão. O escopo do VO₂ foi calculado através da razão entre o VO₂ pico e o VO₂ padrão. A energia do alimento foi obtida na literatura com referência “A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos” que informa que uma porção de 100g de acém cru moído possui 137 Kcal. A partir disto foi calculado quantas calorias havia nas porções ingeridas por cada animal. A energia total dispendida no processo foi calculada pela somatória da taxa metabólica de cada animal ao longo no tempo de duração do SDA. O custo energético do SDA foi calculado pela subtração da energia mobilizada pela estimativa de gasto para manutenção da homeostasia em situação basal, pelos valores da taxa metabólica padrão. O valor de 0,0198 kJ foi utilizado como energia para o uso de cada 1ml de O₂ (GESSMAN e NAGY; 1988). O coeficiente do SDA foi obtido através da proporção de energia presente no alimento que foi utilizada durante o processo de incremento metabólico.

7.2 Análise dos dados

Os parâmetros foram analisados para verificação de normalidade (Shapiro-Wilk, variáveis dependentes) e homocedasticidade (teste de Levene).

A variáveis com distribuição não normal (massa corporal, quantidade de alimento ingerido e energia do alimento ingerido) foram apresentados como mediana, percentil 25 e 75, valores mínimo e máximo, com indicação de média (+). Estes foram analisados entre os grupos com o teste de Mann-Whitney, seguido do teste *post-hoc* de Kruskal-Wallis.

Foi realizado o teste *t* de Student para variáveis independentes, para comparar os valores da taxa metabólica padrão (TMP) na fase do dia [Osc-Dia (25° C)] contra a TMP na fase da noite [Osc-Noite (20° C)]. A significância adotada foi de $p < 0,05$.

A ANOVA *one way* seguido do teste *post-hoc* de *Student-Newmann-Kills* (SNK) foram utilizados para as demais variáveis. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

As análises foram realizadas pelo programa de estatística *Statistical Package for Special Sciences* (IBM SPSS® Statistics). O nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi observado para todos os testes. Todos os gráficos foram confeccionados no software GraphPad Prism®, versão 5 para Macintosh.

8. RESULTADOS

A alteração da temperatura não interferiu na taxa metabólica padrão dos grupos experimentais. Assim, os grupos mantidos em temperatura constantes de 20°C (T-20), 25°C (T-25) e oscilante (T-oscilante), apresentaram valores similares de taxa metabólica para manutenção sistêmica. Porém, os resultados das medianas de consumo da TMP dos grupos mantidos sob T-oscilante apresentaram diferença estatística ($p=0,03$), comparando-se os valores da fase do dia [Osc-Dia (25°C)] e durante a fase da noite [Osc-Noite (20°C)], a TMP foi maior na fase do dia (Figura 3).

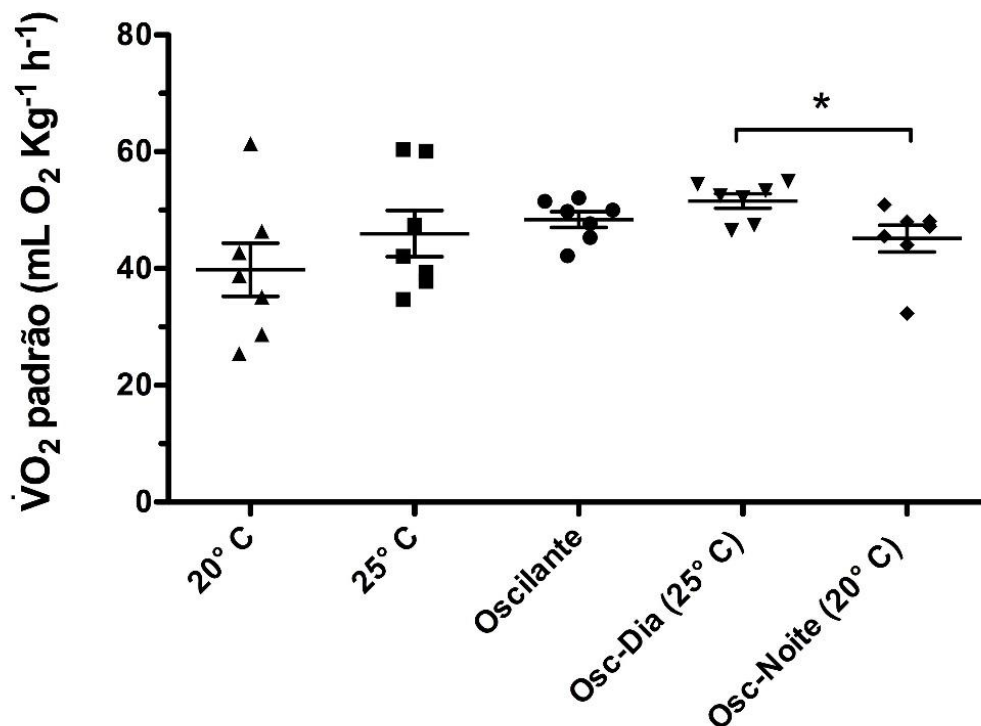


Figura 3 - TMP em grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, $n=7$, mantidos a 20°C (T-20), 25°C (T-25) constante e em temperatura oscilante (T-oscilante), antes da alimentação (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p<0,05$)). TMP do grupo mantido a T-oscilante dia (25°C) e oscilante noite (20°C). * representa diferença estatística por meio do teste t de Student para variáveis independentes Osc-Dia (25°C) VS Osc-Noite (20°C).

A temperatura afetou o valor máximo do incremento metabólico pós-prandial, de forma que o grupo T-25 e T-oscilante tiveram pico de $\dot{V}O_2$ superior ao T-20. Foi observado que os animais do grupo T-oscilante demonstraram aumento metabólico similar ao apresentado por T-25 (Figura 4).

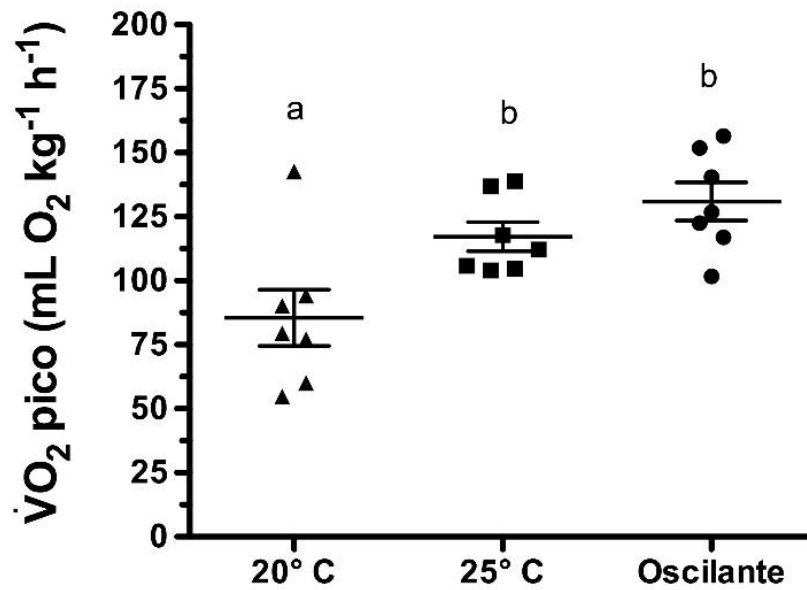


Figura 4 - Valores do consumo máximo de O_2 (pico do $\dot{V}O_2$) durante o SDA em grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, mantidas em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite). Letras diferentes denotam médias diferentes (*one-way* ANOVA e Post-Hoc Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

O escopo metabólico segue o mesmo padrão da variável $\dot{V}O_2$ pico. Ele aumenta de 2,15 no grupo T-20 para 2,63 e 2,70, nos grupos T-25 e T-oscilante, respectivamente. Não há diferença entre T-25 e T-oscilante (Figura 5).

As diferenças no aumento ocorreram a despeito do tempo para desenvolver tal aumento. O tempo para pico de $\dot{V}O_2$ durante o SDA foi similar entre os grupos experimentais (Figura 6).

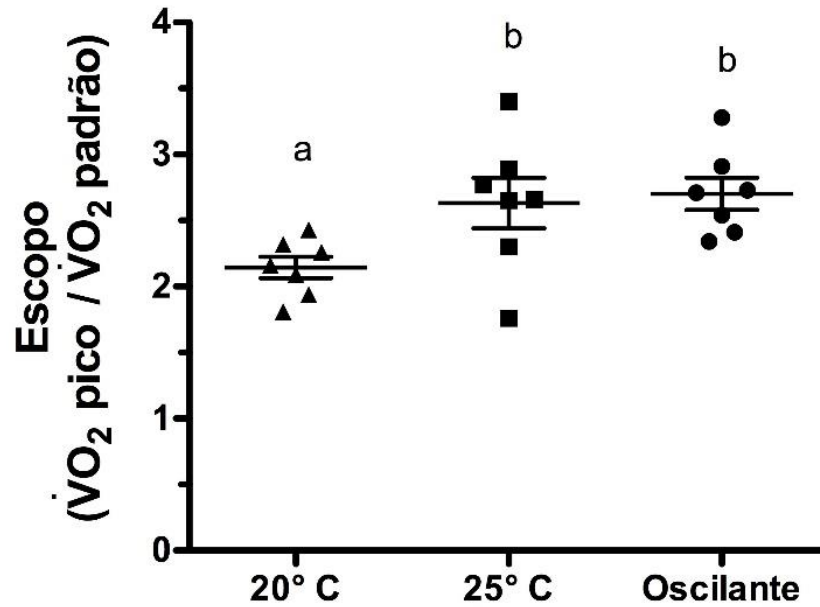


Figura 5 - Escopo metabólico alcançado pelos grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, submetidas a temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite). Letras diferentes denotam médias diferentes (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

Como já adiantado acima, o tempo para o pico do VO_2 , em horas, foi similar entre os grupos experimentais (Figura 6).

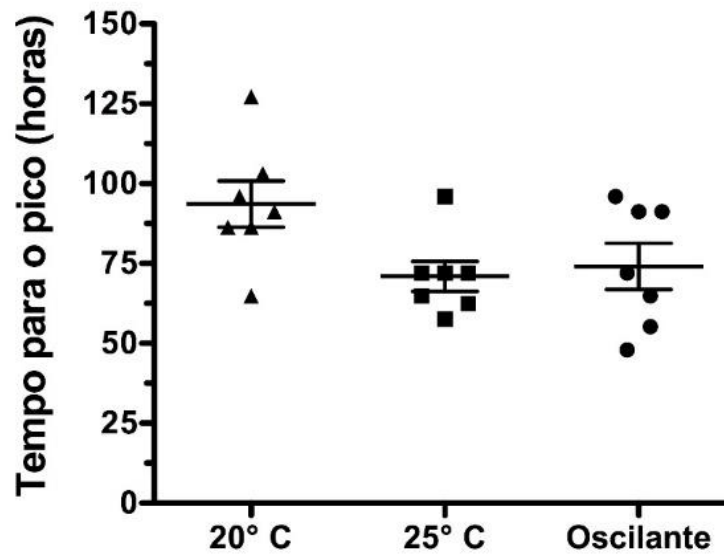


Figura 6 - Tempo para o alcance do valor do consumo máximo do VO_2 durante o SDA dos grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, mantidas em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite) (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

Em relação ao custo energético do SDA, o grupo T-25 demonstrou custo significativamente maior, em relação ao grupo T-20. O custo energético permaneceu alto, mesmo com a oscilação de temperatura (Figura 7).

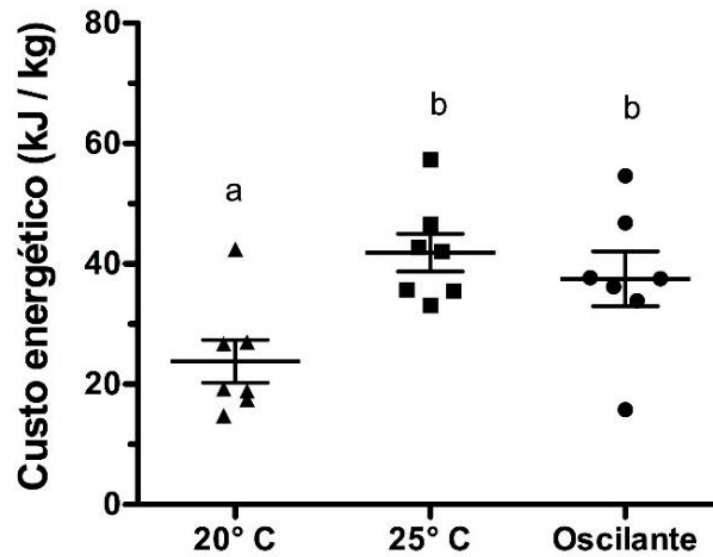


Figura 7 - Custo energético do SDA dos grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, mantidas em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite). Letras diferentes denotam médias diferentes (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

Apesar do grupo T-oscilante ter mobilizado um valor energético similar ao grupo T-25, durante o SDA, ele utilizou menor parte de energia do alimento para o SDA, tendo um coeficiente significativamente menor (20%). O valor do coeficiente atingido pelo grupo T-25 foi de 25%. O coeficiente do grupo T-20 foi menor em relação aos dois grupos anteriores, atingindo um valor de 14% (Figura 8).

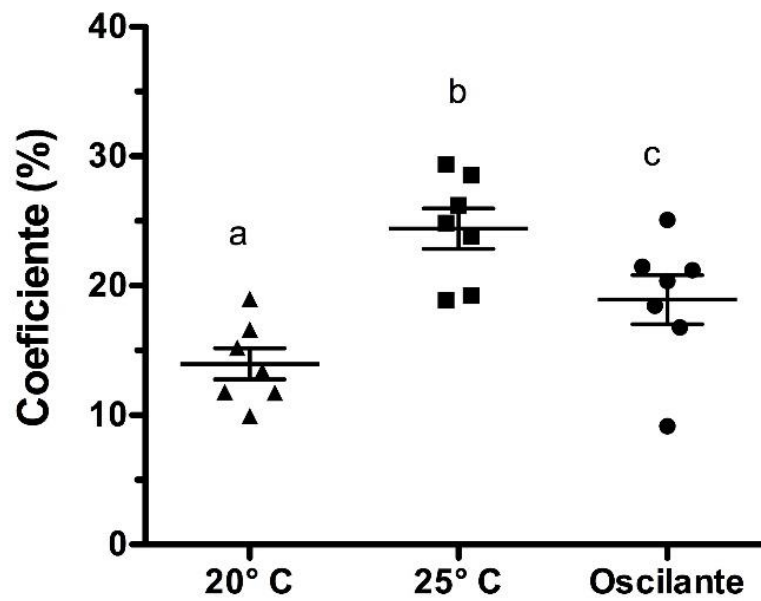


Figura 8 - Porcentagem da energia do alimento utilizada durante o SDA por grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, mantidos em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite). Letras diferentes denotam médias diferentes (one-way ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

Os resultados obtidos referentes ao consumo total de O₂ durante o SDA, não exibiram diferença significativa entre os grupos tanto na fase do dia (Figura 9A) quanto na fase da noite (Figura 9B).

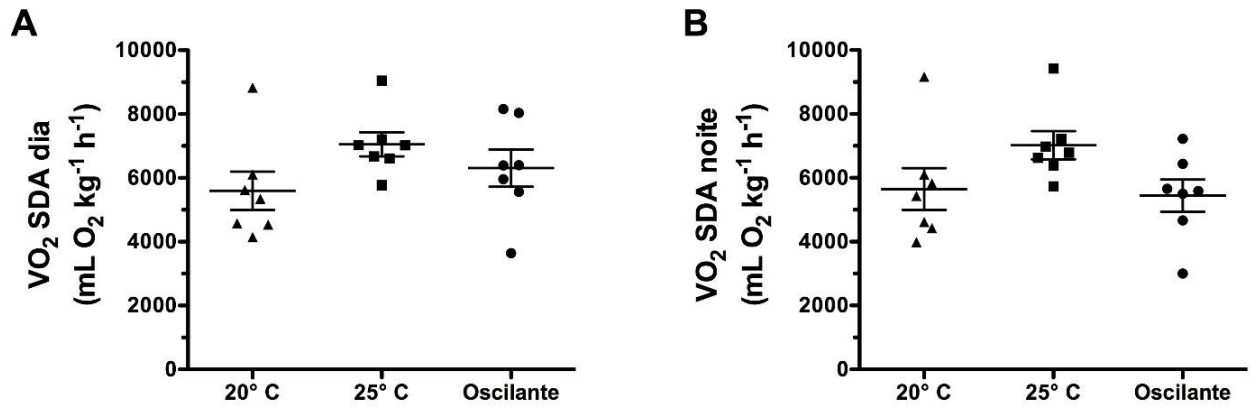


Figura 9 - A – Consumo total de O₂ durante o SDA na fase do dia em grupos de rã-touro, *Lithobates catesbeianus*, mantidos em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25); e em temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) e 20°C (noite). **B**- O consumo total de O₂ durante o SDA na fase da noite nos grupos submetidos a temperatura constante de 20°C e 25°C e temperatura oscilante (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

A temperatura teve grande efeito na duração do processo de SDA. Os animais do grupo oscilante apresentaram SDA mais curto, quando comparados ao T-25 e T-20 (Figura 10).

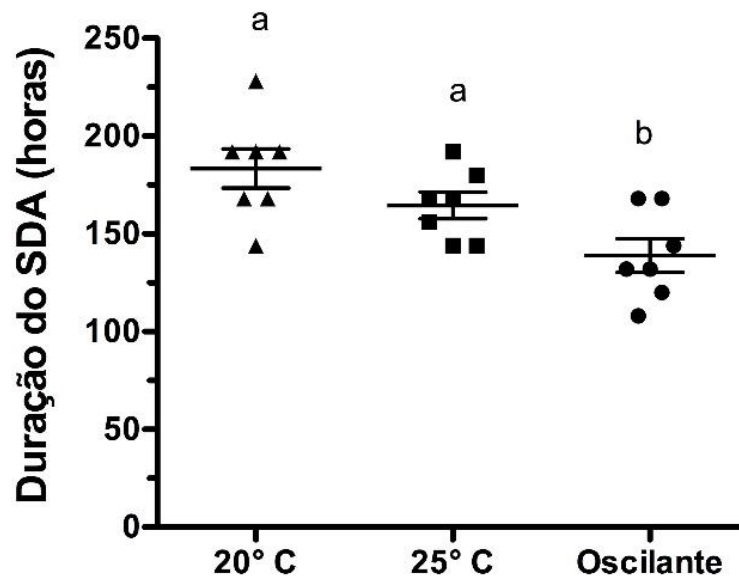


Figura 10 - Duração do SDA (em horas) nos grupos de rã touro, *Lithobates catesbeianus*, submetidos a temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e temperatura oscilante (T-oscilante), 25°C (dia) 20°C (noite). Letras diferentes denotam médias diferentes (*one-way* ANOVA e Student Newman Keuls ($p < 0,05$)).

A figura 11 ilustra os valores do perfil metabólico pós-prandial dos três grupos experimentais (T-20, T-25 e T-oscilante), verificado através do registro do $\dot{V}O_2$ de cada grupo animal utilizado durante a coleta de dados referente ao incremento metabólico pós-prandial (SDA).

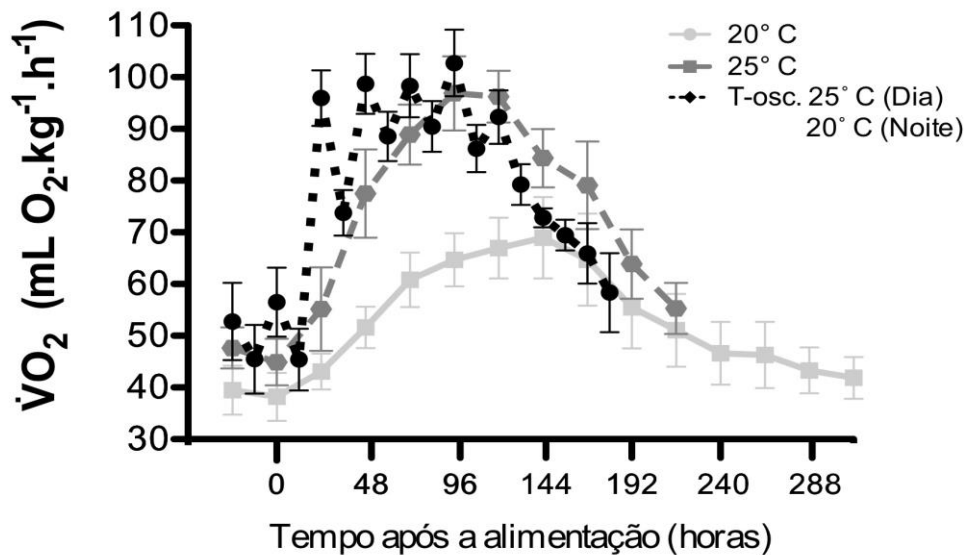


Figura 11 - Variação da taxa do consumo de O₂ durante o incremento metabólico pós-prandial (SDA) dos grupos da espécie *Lithobates catesbeianus* alimentadas com uma quantidade equivalente a 10% de sua massa corporal. Mantidas em temperatura constante de 20°C (T-20) e 25°C (T-25), e em temperatura oscilante [T-oscilante, ciclos de 12h a 25°C (dia) e 12h a 20°C (noite)]. O tempo zero (0) indica o momento da alimentação.

9. DISCUSSÃO

Para estipular os regimes das temperaturas que os grupos foram mantidos, foi utilizado os registros das temperaturas aferidas por Amaral (2016). Foi verificado que durante o SDA, a rã touro utilizava a fonte de calor da caixa de manutenção para manter a temperatura corporal à 25°C, durante o dia, período em que a lâmpada de aquecimento do tanque de manutenção estava ligada. Constatou-se que a temperatura média dos animais variava entre 20°C e 25°C. Perante os resultados obtidos através do registro da temperatura corporal dos animais, foi observado que a temperatura de preferência da rã touro se encontra entre as temperaturas de 20°C e 25°C. Tais informações vai ao encontro do relatado por Lima e Agostinho (1988), que constataram que a temperatura do ambiente influencia diretamente nas atividades metabólicas e no consumo alimentar da rã - touro. Em temperaturas inferiores a 15°C a rã deixa de se alimentar e a partir dos 10°C a maioria das rãs entram em estágio letárgico. Perante ao exposto, pode-se inferir que os animais utilizados nos experimentos se encontravam sob um conforto térmico, aspecto de extrema importância para a coleta dos dados, evitando-se ao máximo uma situação de estresse durante os protocolos experimentais. Estas mesmas temperaturas de 20°C e 25°C também foram utilizadas durante a execução de outras pesquisas de investigação do SDA na espécie *Lithobates catesbeianus* alimentadas com o equivalente a 10% de sua massa corporal (SECOR, WOOTEN E COX, 2007; SECOR, 2009).

Em estudos já realizados (Secor, Wooten e Cox, 2007) com anuros da espécie *Lithobates catesbeianus* (rã-touro), alimentados com o equivalente a 10% de sua massa corporal, a TMP nos animais mantidos em temperatura constante de 20°C apresentou valores menores, comparado a animais mantidos em temperatura constante de 25°C que apresentaram uma TMP mais alta. Os nossos resultados não evidenciaram valores mais baixos de TMP no grupo mantido a 20°C constante e valores mais altos de TMP nos animais são mantidos em 25°C constante. Agregando a literatura consultada, o estudo realizado por Gavira e Andrade (2013), a respeito do SDA em serpentes da espécie *Bothrops alternatus*, animais ectotérmicos, foi constatado que a TMP desses animais também foi influenciada por variações na temperatura corporal. Dessa forma, a TMP foi maior no grupo mantido sob 25°C constante e menor no grupo mantido sob 20°C constante, as médias desse consumo de O₂ pelos grupos foi de 33,3±1,4 e 21,1±1,8 mL O₂. Kg⁻¹. h⁻¹, respectivamente. Tal evidência não vem ao encontro do ocorrido com a rã touro utilizada em nosso trabalho de pesquisa, pois esta também se trata de um animal

ectotérmico, mas não apresentou variações em sua TMP em virtude de variações em sua temperatura corporal. Cabendo aqui salientar que até a presente data, não foi encontrado na literatura dados relacionados a TMP da espécie *Lithobates catesbeianus* mantida em temperatura oscilante.

Em nosso estudo, o VO_2 pico, valor máximo do consumo de O_2 durante o SDA, foi menor nos animais submetidos a temperatura de 20°C constante, comparado aos animais submetidos a temperatura de 25°C constante e oscilante. O aumento de 5°C na temperatura corporal do animal resultou em um aumento do valor do pico do VO_2 . Secor *et al.* (2007) comprovou que existe uma elevação no valor do pico do VO_2 durante o SDA, decorrente do aumento da temperatura corporal na espécie *Lithobates catesbeianus*. Assim, a temperatura exerceu influência direta no valor do pico do VO_2 .

O tempo para atingir o pico do VO_2 foi similar nos três grupos, ao redor de 70 horas. A oscilação da temperatura também não gerou efeito diferente do evidenciado em temperatura constante em relação ao pico do VO_2 . Assim, a oscilação na temperatura corporal em *Lithobates catesbeianus* não possibilitou o alcance mais rápido do pico do VO_2 . Tais resultados foram diferentes dos encontrados por Secor, Wooten e Cox (2007) que firmam que a espécie *Lithobates catesbeianus* atinge o pico do VO_2 entre 24 e 48 horas após a alimentação. Contudo, tal resultado ocorreu sob temperatura constante de 30°C, o que difere de nosso estudo que foi realizado sob 20°C e 25°C e temperatura oscilante (25°C na fase do dia e 20°C na fase da noite). Estudos envolvendo outros grupos de ectotérmicos, serpentes e jacarés, mostraram que o pico do VO_2 destes animais foi alcançado entre 24 e 48 horas após a alimentação (ANDRADE *et al.*, 1997; BUSK *et al.*, 2000b; Secor *et al.*, 2002). Sendo assim, o tempo para o pico do VO_2 na espécie *Lithobates catesbeianus* foi independente da constância ou não da oscilação da temperatura corporal do animal, na faixa de temperatura utilizada.

O escopo metabólico do grupo mantido na temperatura de 20°C constante foi menor que os dois outros grupos. O menor valor do VO_2 pico contribuiu para tal resultado. Este resultado conflita com o relatado por Andrade *et al.* (2005) e McCue (2006), pois afirmam que o escopo não é afetado pela variação de temperatura corporal nesta espécie.

O custo energético do SDA no grupo mantido a 25°C constante foi maior. Tal ocorrência pode ser justificada pelo maior valor de VO_2 pico apresentado e a ocorrência de um maior consumo de O_2 durante o SDA.

O valor do coeficiente (variável que corresponde a uma porção da energia do alimento ingerido que foi utilizada para a assimilação do próprio alimento durante o SDA) do grupo mantido em temperatura oscilante foi de 20%. Já os grupos mantidos sob temperatura constante

25°C e 20°C, atingiram valores de coeficiente de 25% e 14%, respectivamente. Desta forma, houve uma diferença significativa entre os grupos em decorrência da diferença da temperatura corporal. Os valores dos coeficientes alcançados em nosso estudo, correspondentes aos animais mantidos sob temperatura de 25°C e 20°C constante, foram próximos aos valores de coeficiente apresentados por Secor, Wooten e Cox (2007), 18,8% para o grupo submetido a 25°C e 12,7% para o grupo submetido a 20°C. Assim, nota-se que a temperatura corporal mais alta promoveu um maior despendimento energético para o animal durante o SDA. Outro estudo realizado com outra espécie de rã, a rã de chifre, revelou também um aumento do coeficiente em decorrência do aumento da temperatura corporal deste animal (POWELL *et al.*, 1999).

Do ponto de vista energético, pode-se considerar que é menos vantajoso para o animal ficar sob um regime de temperatura mais alto, como foi realizado com o grupo mantido a 25°C constante. Além disso, a temperatura oscilante contribuiu significativamente para que o animal assimilasse mais energia do alimento ingerido. A temperatura menor acarreta em maior ganho energético, mas com o custo de maior tempo de SDA. A escolha entre tempo de fragilidade ao digerir grandes massas e ganho energético está fora do escopo do presente trabalho, mas é uma questão ecologicamente interessante se puder, de alguma forma, ser feita pelo animal.

A oscilação da temperatura permitiu que os animais tivessem um SDA mais rápido. Essa redução da duração do SDA apresenta grande vantagem para o animal. Estudos com ectotérmicos mostraram que durante o SDA, estes animais apresentam uma tendência para redução nas habilidades locomotoras e defensivas, ficando estes expostos a possíveis predadores (PAULY e BERNARD, 2002). Assim, a redução do tempo de duração do SDA, proporcionado pela oscilação da temperatura corporal em *Lithobates catesbeianus*, possui grande importância, representando uma vantagem para a espécie, estando menos sujeita a predação. Essa redução no tempo de duração do SDA pode ser ecologicamente relevante, pois permite a digestão da presa mais rápido, permitindo que o animal se dedique a outra presa e/ou passe menos tempo com a mobilidade prejudicada. Ainda sobre nossos resultados, os animais em temperatura oscilante tiveram aumento metabólico ao mesmo tempo dos animais mantidos a 25°C constante. Isso significa que deva acontecer algum ajuste hormonal e enzimático para acelerar as atividades de digestão e absorção para que o pico do VO₂ seja igual nos dois grupos e o tempo de duração do SDA seja menor. Essa informação também é relevante para animais mantidos em cativeiro, pois seus resultados indicam um melhor aproveitamento energético destes sob regime de temperatura oscilante.

Perante o que foi descrito, no protocolo desenvolvido em temperatura oscilante o perfil metabólico pós-prandial da espécie *Lithobates catesbeianus* apresentou uma correlação com a

temperatura, produzindo uma dinâmica e magnitude da resposta metabólica pós-prandial diferente da desencadeada sob temperatura constante. Dessa forma, nossas hipóteses se confirmam.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O protocolo de temperatura oscilante promoveu um processo de incremento metabólico pós-prandial (SDA) mais rápido e com menor coeficiente no grupo mantido em temperatura oscilante. As oscilações metabólicas proporcionadas pela variação da temperatura corporal dos animais poderiam atrasar a finalização do SDA por permitir processos mais rápidos apenas nos momentos de maior temperatura corporal, observado na fase diurna. Contudo, observamos que, apesar da variação térmica afetar o metabolismo, fato visto pelo registro do VO_2 , mais energia foi mobilizada no início do SDA. Assim, o pico de VO_2 e o custo energético do incremento metabólico pós-prandial dos animais com variação na temperatura corporal, apresentaram um aumento.

Com a realização dessa pesquisa foi comprovado que o perfil metabólico pós-prandial da espécie *Lithobates catesbeianus* é dependente da temperatura, produzindo respostas diferentes tanto em temperatura oscilante, quanto em temperatura constante. Desta forma, a coleta de dados referentes ao incremento metabólico pós-prandial (SDA), desenvolvido sob variação diária na temperatura corporal mostrou-se relevante.

11. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ADAMS, E.T. Specific dynamic action from the standpoint of the second and third laws of thermodynamics. **J. Biol. Chem.** 67, 21–22 and Integrative Physiology 128: 535-549, 1926.

AMARAL, N. A. L. Efeitos da temperatura corporal no metabolismo aeróbico pós-prandial em *Lithobates catesbeianus* (Rã Touro). **Trabalho de conclusão de curso** apresentado na Universidade Federal de São Carlos – SP, 2016.

ANDRADE, D.V., CRUZ-NETO, A.P., ABE, A.S. Meal size and specific dynamic action in the rattlesnake *Crotalus durissus* (Serpentes: Viperidae). **Herpetologia** 53, 485–493, 1997.

ANDRADE, D.V.; CRUZ-NETO, A.; ABE, A.S.; WANG, T. Specific dynamic action in Ectothermic Vertebrates: a general review on the determinants of post-prandial metabolic response in fishes, amphibians, and reptiles. **Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates**. (eds. Starck, J. M. and Wang, T. Science Pub Inc. 2005.

BAUMANN, E.J., HUNT, L. On the relation of thyroid secretion to specific dynamic action. **J. Biol. Chem.** 64, 709–726, 1925.

BEAMISH F.W.H, TRIPPEL E.A. Heat increment: a static or dynamic dimension in bioenergetic model? **Trans Am Fish Soc** 119:649–661, 1990.

BLAXTER, K.L. Energy Metabolism in Animals and Man. Cambridge, NewYork, 1989.

BORSOOK, H. The correlation between excess calories and excess urinary nitrogen in the specific dynamic action of protein in animals. **Proc. Natl.Acad. Sci. U. S. A.** 21, 492–498, 1935.

BORSOOK, H., KEIGHLEY, G. Energy of urea synthesis. **Science** 77, 114, 1933.

BORSOOK, H., WINEGARDEN, H.M. On the specific dynamic action of protein. **PNAS** 17, 75–91, 1931.

BOYCE, S.J., CLARKE, A. Effect of body size and ration on specific dynamic action in the Antarctic plunderfish. **Physiol. Zool.** 70, 679–690, 1997.

BRAGA, L.G.T.; LIMA, S.L. Influência da temperatura ambiente no desempenho da Rã Touro, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802) na fase de recria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n.6, p. 1659-1663, 2001.

BRODY, S. Bioenergetics and Growth. Reinhold, New York, 1945.

BROWN, C.R., CAMERON, J.N. The induction of specific dynamic action in channel catfish by infusion of essential amino acids. **Physiol. Zool.** 64, 276–297, 1991a.

BROWN, C.R., CAMERON, J.N. The relationship between specific dynamic action (SDA) and protein synthesis rates in channel catfish. **Physiol. Zool.** 64, 298–309, 1991b.

- COULSON, R.A., HERNANDEZ, T. Increase in metabolic rate of the alligator fed proteins or amino acids. **J. Nutr.** 109, 538–550, 1979.
- CUNHA, E. R., DELARIVA R. L. Introdução da Rã Touro, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802): Uma Revisão. **Rev, Saúde e Biol.**, v.4, n.2, p.34-46, Jul./Dez. 2009.
- DOCK, W. The rate of oxygen utilization by rat kidneys at different rates of urea excretion. **Am. J. Physiol.** 106, 745–749, 1934.
- FRENCH, K., RANDALL D., BURGGREN, W. **Eckert – Fisiologia Animal – Mecanismos e Adaptações**. 4ª edição. Guanabara Koogan, 2011.
- FICETOLA, G.F.; BONIN, A.; MIAUD, C. Population genetics reveals origin and number of founders in a biological invasion. **Molecular Ecology**, n. 17, p. 773-782, 2008.
- FU, S.J., XIE, X.J., CAO, Z.D. Effect of meal size on postprandial metabolic response in southern catfish (*Silurus meridionalis*). **Comp. Biochem. Physiol.**, A 140, 445–451, 2005.
- GARROW, J.S., HAWES, S.F. The role of amino acid oxidation in causing ‘specific dynamic action’ in man. **Br. J. Nutr.** 27, 211–219, 1972.
- GAVIRA R. S. B.; ANDRADE D. V. Temperature and thermal regime effects on the specific dynamic action of *Bothrops alternatus* (Serpentes, Viperidae). **Amphibia –Reptilia** 34 483-491, 2013.
- GAVIRA R. S. B., ANDRADE D. V. Meal size effects on the postprandial metabolic response of *Bothrops alternatus* (Serpentes: Viperidae). **Zoologia** 30 (3): 291-295, June, 2013.
- GAWECKI, J., JESZKA, J. The effect of the extent of hydrolysis on casein on its specific dynamic action in the rat. **Br. J. Nutr.** 40, 465–471, 1978.
- GREENE, H.W. Dietary correlates of the origin and radiation of snakes. **Amer. Zool.** 23, 431_441, 1983.
- GREENE, H.W. Snakes: The Evolution of Mystery in Nature. University of California Press, Berkeley, 351 p, 1997.
- GRISOLIA, S., KENNEDY, J. On specific dynamic action, turnover, and protein synthesis. **Perspect. Biol. Med.** 9, 578–585, 1965.
- HADDAD, C.F.B. Uma Análise da Lista Brasileira de Anfíbios Ameaçados de **Extinção**. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. ICMBio, 2018.
- HOPKINS, W.A., ROE, J.H., PHILLIPI, T., CONGDON, J.D. Digestive metabolism in banded water snakes, *Nerodiafasciata*. **Am. Zool.** 39, 95A–96A, 1999.
- HOULIHAN, D. Protein turnover in ectotherms and its relationships to energetics. **Adv. Comp. Environ. Physiol.** 7, 1–43, 1991.

Instituto de Biologia – Disponível em http://www.ib.usp.br/grant/Ra-touro_no_Brasil, acessado em 19-07-2019.

IWATA, K. Relationship between food and growth in young crucian carps, *Carassius auratus cuvieri*, as determined by the nitrogen balance. **Jap. J. Limnol.** 31, 129–151, 1970.

JANES, D.N., CHAPPELL, M.A. The effect of ration size and body size on specific dynamic action in adelic penguin chicks, *Pygoscelis adeliae*. **Physiol. Zool.** 68, 1029–1044, 1995.

JOBLING, M. The influences of feeding in the metabolic rate of fishes: a short review. **J. Fish Biol.** 18, 385–400, 1981.

JORDAN, A.D., STEFFENSEN, J.F. Specific dynamic action in *Gadus morhua* under normoxia and moderate strong hypoxia. **Comp. Biochem. Physiol., A** 141, S213, 2005.

KALARANI, V., DAVIES, R.W. The bioenergetic costs of specific dynamic action and ammonia excretion in a freshwater predatory leech *Nepheleopsis obscura*. **Comp. Biochem. Physiol., A** 108, 523–531, 1994.

LABAYEN I., FORGA L., MARTINEZ J.A. Nutrient oxidation and metabolic rate as affected by meals containing different proportions of carbohydrate and fat, in healthy young women. **Eur J Nutr** 38:158–166, 1999.

LEITE, C. A. C., WANG, T., TAYLOR, E. W., ABE, A. S., LEITE, G. S. P. C. and ANDRADE, D. O. V. Loss of the ability to control right-to-left shunt does not influence the metabolic responses to temperature change or long-term fasting in the South American Rattlesnake *Crotalus durissus*. **Physiol Biochem Zool.** 87, 568–575, 2013.

LILLYWHITE, H.B., LICHT, P., CHELGREN, P. The role of behavioral thermoregulation in the growth energetics of the toad, *Bufo boreas*. **Ecology** 54, 375–383, 1973.

LIMA S.L., AGOSTINHO C. A. A Criação de Rãs – 2ª edição – Editora Globo, 1989.

MACHIDA, Y. Study of specific dynamic action on some freshwater fishes. **Rep. USA Mar. Biol. Inst.**, Kochi Univ. 3, 1–50, 1981.

MCCUE, M. D. "Specific dynamic action: a century of investigation." **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol** 144(4): 381-394, 2006.

MCCUE, M.D., BENNETT, A.F., HICKS, J.W. The effect of meal composition on specific dynamic action in Burmese pythons (*Python molurus*). **Physiol. Biochem. Zool.** 78, 182–192, 2005.

MUIR, B.S., NIIMI, A.J. Oxygen consumption of the euryhaline fishaholehole (*Kuhlias and vicensis*) with reference to salinity, swimming, and food consumption. **J. Fish. Res. Board Can.** 29, 67–77, 1972.

OWEN, S.F. Meeting energy budgets by modulation of behaviour and physiology in the eel (*Anguilla anguilla* L.). **Comp. Biochem. Physiol., A** 123, 631–644, 2001.

- PAN Z-C, JI X, LU H-L, MA X-M. Influence of food type on specific dynamic action of the Chinese skink *Eumeces chinensis*. **Comp Biochem Physiol** 140A:151–155, 2005b.
- PIERCE, R.J., WISSING, T.E. Energy cost of food utilization in the bluegill (*Lepomis macrochirus*). **Trans. Am. Fish. Soc.** 103, 38–45, 1974.
- POWELL, M.K., MANSFIELD-JONES, J., GATTEN, R.E. Specific dynamic effect in the horned frog *Ceratophrys cranwelli*. **Copeia** 1999, 710–717, 1999.
- RADFORD, C.A., MARSDEN, I.D., DAVISON, W. Temporal variation in the specific dynamic action of juvenile New Zealand rock lobsters, *Jasus edwardsii*. **Comp. Biochem. Physiol., A** 139, 1–9, 2004.
- ROBERTSON R.F, MEAGOR J., TAYLOR E.W. Specific dynamic action in the shore crab, *Carcinus maenas* (L.), in relation to acclimation temperature and to the onset of the emersion response. **Physiol Biochem Zool** 75:350–359, 2002.
- ROE, J.H., HOPKINS, W.A., SNODGRASS, J.W., CONGDON, J.D. The influence of circadian rhythms on pre- and post-prandial metabolism in the snake *Lamprophis fuliginosus*. **Comp. Biochem. Physiol., A** 139, 159–168, 2004.
- SECOR, S.M. Gastric function and its contribution to the post prandial metabolic response of the Burmese python *Python molurus*. **J. Exp. Biol.** 206, 1621–1630, 2003.
- SECOR, S. M. "Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response." **J Comp Physiol B** 179(1): 1-56, 2009.
- SECOR, S.M., DIAMOND, J. Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping. **J. Exp. Biol.** 198, 1313–1325, 1995.
- SECOR, S.M., FAULKNER, A.C. Effects of meal size, meal type, body temperature, and body size on the specific dynamic action of the marine toad, *Bufo marinus*. **Physiol. Biochem. Zool.** 75, 557–571, 2002.
- SECOR, S.M., PHILLIPS, J.A. Specific dynamic action of a large carnivorous lizard *Varanus albigularis*. **Comp. Biochem. Physiol., A** 117, 515–522, 1997.
- SECOR, S.M., STEIN, E.D., DIAMOND, J. Rapid upregulation of snake intestine in response to feed: a new model of intestinal adaptation. **Am. J. Physiol.** 266, G695–G705, 1994.
- SECOR, M., WOOTEN, J., COX, C. Effects of meal size, meal type, and body temperature on the specific dynamic action of anurans. **J Comp Physiol B** 177:165–182 DOI 10.1007/s00360-006-0119-2, 2007.
- STARCK, J. M., MOSER, P., WERNER, R. A. AND LINKE, P. Pythons metabolize prey to fuel the response to feeding. **P Roy Soc B-BiolSci** 271, 903–908, 2004.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal – Adaptação e Meio Ambiente**. 5ª edição. Livraria Santos Editora Com.Imp.Ltda. 2002.

STANFIELD, C. L. **Fisiologia Humana**. 5ª edição. Pearson Education do Brasil - São Paulo. 2014.

SWENNEN Q, JANSSENS GPJ, COLLIN A, LE BIHAN-DUVAL E, VERBEKE K, DECUYPERE E, BUYSE J. Diet-induced thermogenesis and glucose oxidation in broiler chickens: influence of genotype and diet composition. **Poult Sci** 85:731–742, 2006.

TACO Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Disponível em http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf, acessado em 20-05-2019

TANDLER, A., BEAMISH, F.W.H. Mechanical and biochemical components of apparent specific dynamic action in largemouth bass, *Micropterus salmoides* Lacepede. **J. Fish Biol.** 14, 343–350, 1979.

TAYLOR, C.M., PYE, O.F. Foundations of Nutrition. MacMillan, New York, 1966.

TERROINE, E., BONNET, R. Le mecanisme de l'action dynamique specifique. **Ann. Physiol. Physicochim. Biol.** 5, 268–294, 1929.

WANG, T., ZAAR, M., ARVEDSEN, S., VEDEL-SMITH, C., OVERGAARD, J. Effects of temperature on the metabolic response to feeding in *Python molurus*. **Comp. Biochem. Physiol., A** 133, 519–527, 2003.

WANG T., BUSK H., OVERGAARD J. The respiratory consequences of feeding in amphibians and reptiles. **Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular**, 2001a.

WHITELEY, N. M., R. F. ROBERTSON, J. MEAGOR, A. J. EL HAJ AND E. W. TAYLOR. "Protein synthesis and specific dynamic action in crustaceans: effects of temperature." **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol** 128(3): 595-606. Whitney, E.N., Rolfes, S.R., 1996. Understanding Nutrition. West, New York, 2001.

WILHELMJ, C.M. The specific dynamic action of food. **Physiol. Rev.** 15, 202–220, 1935.

WILSON, R.H., LEWIS, H.B. The formation of glycogen after oral administration of amino acids to white rats. **J. Biol. Chem.** 85, 559–566, 1930.

WILSON, R.P., CULIK, B.M. The cost of a hot meal: facultative specific dynamic action may ensure temperature homeostasis in post-ingestive endotherms. **Comp. Biochem. Physiol., A** 100, 151–154, 1991.

WISHART, G.M. The influence of the protein intake on the basal metabolism. **J. Physiol.** 65, 243–254, 1928.

WITTERS, L. R. AND SIEVERT, L. M. Feeding causes thermophily in the Woodhouse's toad (*Bufo woodhousii*). **J. Therm. Biol.** 26, 205-208, 2001.

ZAIDAN, F., BEAUPRE, S.J. Effects of body mass, meal size, fast length, and temperature on specific dynamic action in the timber rattlesnake (*Crotalus horridus*). **Physiol. Biochem. Zool.** 76, 447–458, 2003.

Figura 1 - Representação esquemática do incremento metabólico pós-prandial - SECOR, S. M. "Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response." **J Comp Physiol B** 179(1): 1-56, 2009.

Figura 2 - Leituras registradas por Ibuttons exibindo a variação da temperatura - AMARAL, N. A. L. Efeitos da temperatura corporal no metabolismo aeróbico pós-prandial em *Lithobates catesbeianus* (Rã Touro). **Trabalho de conclusão de curso** apresentado na Universidade Federal de São Carlos – SP, 2016.