

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar / UNESP Araraquara**

**Variação sazonal da composição corporal de  
lagartos teiús (*Salvator merianae*) utilizando a  
técnica não invasiva Absorciometria de Raios-X  
de Dupla Energia (DEXA)**

**Tiago Fabricio Carabolante**

**Orientadora: Profa. Dra. Kênia Cardoso Bicego**

**Jaboticabal, SP  
2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar / UNESP Araraquara**

**Variação sazonal da composição corporal de  
lagartos teiús (*Salvator merianae*) utilizando a  
técnica não invasiva Absorciometria de Raios-X  
de Dupla Energia (DEXA)**

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Associação Ampla UFSCar/UNESP) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

**Jaboticabal, SP  
2022**



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

---

## Folha de Aprovação

---

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Tiago Fabricio Carabolante, realizada em 21/02/2022.

### Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Kênia Cardoso Bicego (UNESP)

Prof. Dr. Cleo Alcântara Costa Leite (UFSCar)

Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho (UNIFESP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

**APOIO FINANCEIRO:**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq  
(Projeto: 831545/1999-2; Processo nº: 131218/2020-4).

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (processo  
nº: 2019/14646-6)

## AGRADECIMENTOS

---

Em abril de 2019 quando eu fiz o exame de seleção do mestrado eu nem imaginava a montanha russa de emoções que estava por vir nos quase 3 anos seguintes. Logo de início no dia da matrícula fui informado que a bolsa que eu iria receber foi cortada. O desanimo bateu forte, mas segui, pois, recebi apoio de muitas pessoas durante o primeiro ano, que foi bem difícil sem um apoio financeiro. No ano de 2020 a bolsa veio, um pouco de alegria num momento tão ruim, pois infelizmente havia começado uma pandemia terrível, iniciando uma fase de distanciamento social, aulas remotas e laboratórios fechados, dificultando ainda mais a execução dos experimentos. Tivemos que abrir mão de algumas coisas, mas no final conseguimos fazer grande parte do que tínhamos planejado para o projeto. Apesar de tudo, foi uma fase da minha vida que tive boas experiências também, amadureci e cresci tanto no lado pessoal quanto no profissional. O fim do mestrado se aproxima e olhando para trás me sinto orgulhoso por chegar até aqui e poder apresentar um bom trabalho. Mas claro que eu não consegui tudo isso sozinho e são essas pessoas que me ajudaram a trilhar esse caminho que merecem meus agradecimentos especiais...

Primeiramente agradeço às pessoas mais importantes da minha vida, meus pais José Luiz e Sueli, que foram as peças mais importantes dessa caminhada. Eles foram minha base nos momentos de maior dificuldade, sempre fazendo de tudo para que eu não abandonasse essa jornada. Nunca duvidaram da minha capacidade e sempre me incentivaram a estudar. Hoje sei que tudo que eu conquistei até agora foi por ter vocês como pais apoiadores. Essa vitória não é só minha, é nossa.

Agradeço também a minha irmã Talita, que apesar de brigarmos muito quando mais novos, hoje temos uma relação boa muito forte, com muitos momentos de cumplicidade e apoio, além do fato de no último dia de 2021 me apresentar junto com meu cunhado André, a Luísa, e me transformar no maior tio coruja do mundo. Titio ama você, Luli.

Não posso deixar de lado toda a família Carabolante, que sempre foram incríveis comigo e sempre me incentivaram a crescer cada vez mais na minha carreira de biólogo. Em especial vai um agradecimento a minha segunda mãe, vó Lice, que me criou e cuidou de mim desde os dois anos de idade quando meus pais tinham que ir trabalhar. Vózinha, a senhora não pode estar aqui para ver mais essa vitória do seu netinho, mas sei que aí do céu junto com o vô Pedro a senhora está me olhando e orgulhosa de mim.

Outro agradecimento mais que especial é para uma das pessoas que mais me inspiram, a minha orientadora Dr<sup>a</sup> Kênia Cardoso Bícego. Lembro até hoje do dia lá em março de 2014 quando marquei uma reunião para pedir um estágio de iniciação científica. Bom já se passaram vários anos em que você nunca desistiu de mim, mesmo eu sendo uma pessoa difícil de lidar, e nunca me deixou desistir nos momentos difíceis também, sempre me ajudando a resolver

problemas. Sempre me acolheu e deu a oportunidade de desenvolver em seu laboratório meu TCC e agora meu projeto de mestrado. O conhecimento que você me proporcionou em todos esses anos é imensurável. Obrigado por ser uma excelente orientadora, sem você esse trabalho também não seria possível.

Ao pessoal do laboratório de fisiologia animal da UNESP de Jaboticabal que sempre me ajudou muito, obrigado pelo companheirismo e aprendizagem. Em especial ao 'time teiú', Ane e Lívia que me ajudaram no manejo e cuidado dos animais durante todo o meu mestrado. Passamos por muitos perrengues hein!? Mas também tivemos nossos momentos de risadas. Ao Dr. Lucas A. Zena que mesmo antes do meu mestrado sempre me ensinou muito sobre fisiologia e sobre os lagartos teiús e sempre me ajudou com sugestões e dúvidas no meu projeto.

Ao responsável técnico veterinário do laboratório de fisiologia, Rafael A. Sato, pelo suporte veterinário com os animais e pela ajuda durante todas as anestésias e eutanásias realizadas neste trabalho.

Agradeço também ao técnico do laboratório de fisiologia, Euclides pelo auxílio durante todo esse período e também pelas conversas sobre futebol.

À Dr<sup>a</sup> Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes, que nos ajudou durante todo o processo de análise química para a validação da técnica. Auxiliou também nos cálculos e dúvidas sobre composição corporal. Agradeço também a todo pessoal da área de Bromatologia do Laboratório de Avicultura da UNESP de Jaboticabal pelo auxílio nas análises químicas da composição corporal.

Agradeço à Professora Dr<sup>a</sup> Silvana Martinez Baraldi Artoni por possibilitar o uso do aparelho de DEXA e ajudar a definir os parâmetros para os escaneamentos. E agradeço também aos técnicos do laboratório de Densitometria da UNESP de Jaboticabal, Jhonatan e Francisca, pelo auxílio durante escaneamentos.

Agradeço à médica veterinária Marina Emanoella Seruti Pelógia, por ajudar realizando os exames de ultrassonografia e por ajudar com dúvidas sobre a técnica.

Aos membros da banca por terem aceitado o convite, pela atenção e dedicação prestada na leitura deste trabalho, e também por todas as sugestões.

Agradeço também aos três irmãos e a irmã que a faculdade me deu e que hoje são meus melhores amigos, Pietro, Estêvão, Júlio e Carol por sempre me ouvirem reclamar, mas sempre me apoiando.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da UFSCar/UNESP. Em especial ao secretário Alexandre por sempre ajudar com dúvidas e solucionando problemas.

Ao CNPq e à FAPESP, pelos auxílios financeiros durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

---

1. RESUMO.....	1
2. ABSTRACT .....	3
3. INTRODUÇÃO .....	5
3.1 <i>Composição corporal</i> .....	5
3.2 <i>Técnicas para mensurar a composição corporal</i> .....	8
3.3 <i>Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (DEXA)</i> .....	9
4. OBJETIVO .....	11
5. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
5.1 Animais .....	12
5.2 Medidas da Composição Corporal por DEXA.....	12
5.3 Análise Química da Composição Corporal.....	13
5.4 Medidas sazonais da Composição Corporal por DEXA.....	15
5.5 Imagens de Ultrassonografia.....	15
5.6 Análise de dados e estatísticas .....	16
6. RESULTADOS .....	19
6.1 Análise Química da Composição Corporal.....	19
6.2 Validação da Técnica DEXA .....	20
6.3 Variação Sazonal da Composição Corporal.....	24
7. DISCUSSÃO .....	29
8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	41
9. REFERÊNCIAS .....	42

## LISTA DE ABREVIÇÕES

---

- CACT = Conteúdo de Água Corporal Total
- CMO = Conteúdo Mineral Ósseo
- CT = Tomografia Computadorizada
- CV = Coeficiente de Variação
- DEXA = Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (Dual Energy X-ray Absorptiometry)
- HU = Unidades Hounsfield (Hounsfield unit)
- MC = Massa de Cinzas
- MG = Massa de Gordura
- MM = Massa Magra
- MT = Massa Corporal Total
- PB = Proteína Bruta
- PC = Proteína Corporal
- PTH = Hormônio da Paratireoide

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

**Figura 1.** Representação do posicionamento do animal anestesiado para varredura de análise de corpo inteiro no DEXA. A movimentação da mesa nos sentidos rostro-caudal e lateral permite o escaneamento (haste com identificação: Hologic) do corpo inteiro do animal. A anestesia foi mantida por ventilação com isoflurano em O<sub>2</sub>, através do tubo endotraqueal. Detalhes no texto. Foto do autor.

**Figura 2.** Medidas a partir da DEXA de conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG) plotadas em relação a (A) massa de cinzas (MC), (B) proteína corporal (PC) e (C) massa de gordura (MG) determinadas por meio de análise química da composição corporal de seis lagartos teiús (*Salvator merianae*). Para cada componente corporal, a massa calculada pelo DEXA foi significativamente correlacionada com a determinada pela análise química. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre DEXA e os valores observados de composição corporal.

**Figura 3.** Massas preditas com base na equação modelo para massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) plotada em relação a (A) MC, (B) PC, (C) MG e (D) CACT observadas na análise química da composição corporal de seis lagartos teiús *Salvator merianae*. Para cada componente corporal, a massa predita pelo modelo foi altamente correlacionada com aquela determinada pela análise química. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre valores preditos pelas equações e os valores observados de composição corporal nas análises químicas.

**Figura 4.** Variação média para machos e fêmeas da % de (A) massa de cinzas, (B) proteína corporal, (C) massa gordura e (D) conteúdo de água corporal total, em relação à massa corporal total (MT) durante um ciclo anual. Os asteriscos (\*) representam diferenças significativas entre os sexos. As letras “a”, “b” sinalizam que houve diferenças significativas entre as fases, para ambos os sexos.

**Figura 5.** Imagens geradas pela DEXA para uma fêmea de lagarto *Salvator merianae* ao longo das fases de hibernação (junho), pós-hibernação (agosto), reprodução (outubro), pós-postura (novembro), atividade de verão (janeiro) e pré-hibernação (março). É possível notar a variação ao longo das fases dos tecidos moles, magro (cores entre rosa e vermelho) e gorduroso (cores entre laranja e amarelo). O retângulo em azul que se repete na posição inferior esquerda do abdômen é um datalogger de temperatura implantado para outros objetivos.

**Figura 6.** Imagens geradas pela DEXA para um macho de lagarto *Salvator merianae* ao longo das fases de hibernação (junho), pós-hibernação (agosto), reprodução (outubro), atividade de verão (janeiro) e pré-hibernação (março). É possível notar a variação ao longo das fases dos tecidos moles, magro (cores entre rosa e vermelho) e gorduroso (cores entre laranja e amarelo). O retângulo em azul que se repete na posição inferior esquerda do abdômen é um datalogger de temperatura implantado para outros objetivos.

**Figura 7.** Medidas por DEXA de massa de gordura (MG) plotadas em oposição a **(A)** soma do comprimento dos dois corpos gorduroso (cm); **(B)** soma da largura dos dois corpos gordurosos (cm); **(C)** soma da espessura dos dois corpos gordurosos (cm); **(D)** soma das áreas superficiais (comprimento x largura;  $\text{cm}^2$ ) dos dois corpos gordurosos; **(E)** soma da relação ; comprimento x espessura ( $\text{cm}^2$ ) dos dois corpos gordurosos; **(F)** soma da relação largura x espessura ( $\text{cm}^2$ ) dos dois corpos gordurosos; **(G)** soma dos volumes ( $\text{cm}^3$ ; comprimento x largura x espessura) dos dois corpos gordurosos. Medidas dos corpos gordurosos obtidas por ultrassom de oito lagartos teiús (*S. merianae*), em diferentes fases do ciclo anual. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre MG por DEXA e as medidas de corpos gordurosos por ultrassom.

## LISTA DE TABELAS

---

**Tabela 1.** Massas corporais úmida e seca, conteúdos de água corporal total, de massas magras úmida e seca, de massa de gordura e de massa de cinzas a partir de análise química de indivíduos machos (M) e fêmeas (F) de lagartos teiú *Salvator merianae*.

**Tabela 2.** Massa corporal total (MC) e média da triplicata de escaneamento de DEXA para conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG) de indivíduos machos (M) e fêmeas (F) de lagartos teiús (*S. merianae*).

**Tabela 3.** Equações modelos de regressão para prever a massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) a partir de medidas de absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) de massa magra (MM), massa de gordura (MG) e conteúdo mineral ósseo (CMO) para lagartos teiús (*Salvator merianae*).

**Tabela 4.** Valores mínimos e máximos, média, diferença entre médias e intervalo de confiança para valores observados em análise química e preditos pelas equações para os componentes corporais massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) de lagartos teiús *Salvator merianae*. Valores obtidos por meio do teste-t pareado.

**Tabela 5.** Valores médios de cada componente corporal, massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT), relativos à massa total corporal, e desvio padrão (DP) em machos (M) e fêmeas (F) do lagarto teiú (*S. merianae*), para cada fase do ciclo anual.

**Tabela 6.** Valores de coeficiente de variação intra-individual entre dois ou mais escaneamentos, para os componentes corporais fornecido pela DEXA, conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG), em diferentes espécies de vertebrados. Tabela adaptada de Stone e Turner (2012) com acréscimo dos dados do presente estudo

O significativo investimento reprodutivo na primavera, precedido por redução metabólica e de atividade durante a hibernação de inverno e seguido de alta atividade de verão em *Salvator merianae*, devem ser acompanhados por importantes alterações na composição corporal proteica, lipídica e mineral óssea. Técnicas não invasivas de mensuração da composição corporal são fundamentais para estudos longitudinais de história de vida, e da relação entre condição corporal e fisiologia, além da consequente redução no número de animais experimentais. A absorciometria de raios-x de dupla energia (DEXA) é uma técnica não invasiva de medidas que fornece valores de conteúdo mineral ósseo, massa magra e massa de gordura. Esta técnica é amplamente utilizada para determinar a composição corporal de seres humanos, além de outros mamíferos e aves, mas seu uso em lagartos é pouco conhecido, sendo necessária uma validação. Portanto, os objetivos deste estudo foram: i) validar o uso da técnica de DEXA, a partir da comparação com análise química direta, para mensurar cada componente da composição corporal de lagartos *S. merianae*; ii) determinar a variação sazonal da composição corporal de *S. merianae* a partir de escaneamentos de DEXA repetidos em cada estação do ano. Nossos resultados mostram uma forte correlação entre os valores obtidos pelos modelos matemáticos preditivos e valores observados na análise química (valores de  $r$  entre 0,95 e 0,99) sem diferenças significativas entre as médias. Os dados longitudinais sazonais mostram diferenças entre os sexos para massa de proteína corporal e massa de gordura. Variações entre as fases do ciclo anual foram caracterizadas por redução de massa de proteína corporal e massa de gordura durante a primavera, com aumento do conteúdo de água corporal total em ambos os sexos, mas redução de massa de cinzas somente nas fêmeas. Os resultados indicam alterações relativas a uso de reservas energéticas lipídicas para atender a demanda de reprodução em machos e fêmeas, com possível recrutamento de fontes de cálcio óssea pelas fêmeas na produção de ovos. Portanto, concluímos que a técnica de DEXA apresenta-se como uma

ferramenta potencial e excelente para mensuração da composição corporal de lagartos teiú, possibilitando a construção de modelos matemáticos com alto poder preditivo para componentes corporais e altamente relacionados à história de vida da espécie. Com o sucesso da validação e aplicação em um estudo de variação sazonal, a utilização da DEXA parece bem promissora na realização de estudos longitudinais que avaliem padrões na variação da composição corporal que estejam relacionados às alterações morfofisiológicas e bioenergéticas, além do conhecimento sobre a ecologia e a história de vida das espécies.

**Palavras-chave:** massa de gordura, massa de proteína, massa mineral óssea, validação metodológica, machos e fêmeas.

## 2. ABSTRACT

---

The significant reproductive investment in spring, preceded by metabolic and activity reduction during winter hibernation and followed by high summer activity in *Salvator merianae*, must be accompanied by important changes in protein, lipid and bone mineral body composition. Non-invasive techniques for measuring body composition are essential for longitudinal studies of life history, and the relationship between body condition and physiology, in addition to the consequent reduction in the number of experimental animals. Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) is a non-invasive measurement technique that provides values of bone mineral content, lean mass and fat mass. This technique is widely used to determine the body composition of humans, as well as other mammals and birds, but its use in lizards is poorly understood, requiring validation. Therefore, the objectives of this study were: i) to validate the use of the DEXA technique, from the comparison with direct chemical analysis, to measure each component of the body composition of *S. merianae* lizards; ii) to determine the seasonal variation of the body composition of *S. merianae* from DEXA scans repeated in each season of the year. Our results show a strong correlation between the values obtained by the predictive mathematical models and values observed in the chemical analysis ( $r$  values between 0.95 and 0.99) without significant differences between the means. The results indicate changes related to the use of lipid energy reserves to meet the reproductive demand in males and females, with possible recruitment of bone calcium sources by females in egg production. Therefore, we conclude that the DEXA technique presents itself as a potential and excellent tool for measuring the body composition of tegu lizards, enabling the construction of mathematical models with high predictive power for body components and highly related to the life history of the species. With the successful validation and application in a study of seasonal variation, the use of DEXA seems to be very promising in the performance of longitudinal studies that evaluate patterns in the variation of body composition that are related to

morphophysiological and bioenergetic changes, in addition to knowledge about the ecology and the life history of the species.

**Keywords:** fat mass, protein mass, bone mineral mass, methodological validation, males and females.

### **3.1 Composição Corporal**

A maioria dos vertebrados tem uma proporção sólido-líquido muito semelhante nas suas composições corporais. Os componentes sólidos constituem aproximadamente 30% da massa corporal total. Enquanto os fluidos intracelular e extracelular constituem os outros 70% restantes (Wilmer et al., 2005). Em nível molecular, o organismo animal é composto por água, gorduras, proteínas e minerais (Wang et al., 1992; Borga et al., 2018), com compartimentalização da composição corporal em três componentes básicos, tais como massa de gordura, massa magra e massa mineral óssea (Mundi et al., 2019).

A determinação da composição corporal pode ser realizada de duas maneiras diferentes, sendo a primeira uma abordagem direta por meio da análise química da carcaça de um animal e a segunda sendo uma abordagem indireta, por meio de alguma técnica não-invasiva e não-fatal (Speakman, 2001). Ambas têm prós e contras. A primeira é considerada mais precisa nos valores de massa obtidos para cada componente, mas temos a perda do animal, impossibilitando estudos longitudinais. Já na abordagem indireta, não temos a perda do animal, assim tendo como vantagem a redução do número de animais utilizados e ainda a possibilidade de serem reutilizados ao longo de estudos que avaliem mudanças sazonais. Sua desvantagem são os valores menos precisos dos componentes da composição corporal, o que pode ser amenizado por meio da aplicação de equações matemáticas preditivas criadas a partir de um estudo de validação que compare os valores obtidos na análise química com valores mensurados pela técnica não-invasiva para um mesmo indivíduo (Stone et al., 2010).

Técnicas que permitem a mensuração da composição corporal total ou apenas de partes do corpo, fazem parte da história da medicina humana. Atualmente técnicas não-invasivas possibilitam um acompanhamento de mudanças nessa composição, sejam elas hereditárias ou patológicas, como por

exemplo, obesidade sarcopênica, osteoporose, osteoartrite e diabetes (Kuriyan et al., 2018). Com isso é possível avaliar e traçar terapias nutricionais adequadas e outros tratamentos que melhorem a vida do paciente (Thibault et al., 2012; Andreoli et al., 2016; Kuriyan et al., 2018). As técnicas de monitoramento da composição corporal também vêm sendo utilizadas em espécies não-humanas em estudos fisiológicos, ecológicos, ecoimunológicos, e comportamentais, relacionados à história de vida e sobre hipóteses conservação e produção de energia quando enfrentam situações de fome ou flutuação sazonal na disponibilidade de alimento e de mudanças climáticas (Afroz et al., 1971; O'Connor, 1995; Buck e Barnes, 1999; McCue, 2007; McCue, 2008; Simmen et al., 2010; Palacios et al., 2013; Verant et al., 2014; Lind e Beaupre, 2015; Willians et al., 2016; Faherty et al, 2017).

Muitas espécies de répteis apresentam uma dormência sazonal, e a concentração de fases de atividade e reprodução em momentos restritos, como na primavera (Bennett e Dawson, 1976; Gregory, 1982; Abe, 1995). O lagarto teiú *Salvator merianae* pode ser considerada uma espécie com alimentação generalista e estudos demonstram o seu potencial como espécie invasora introduzida (Klug et al., 2015; Jarnevich et al., 2018; Wood et al., 2018; Engeman et al., 2019; Abrahão et al., 2020; Goetz et al., 2021). Portanto a validação de uma técnica não invasiva que permita um monitoramento da composição corporal de indivíduos da espécie é importante para entendermos sobre as estratégias fisiológicas e comportamentais que esses animais utilizam em seu ciclo metabólico anual e as possibilidades para sobreviver em locais com que apresentam desafios, com variações nas condições ambientais.

A espécie *S. merianae* tem distribuição nativa reportada do nordeste brasileiro até o norte da Argentina, Uruguai, Paraguai e parte da Bolívia e trata-se do maior lagarto da família Teiidae, chegando a atingir um comprimento corporal de até 1,6 metros e massa corporal de até 5 kg quando adultos (Andrade et al., 2004). Uma característica peculiar de *S. merianae* é seu padrão de variações sazonais marcantes, com pronunciada fase de atividade durante a primavera e verão, sendo um ativo predador, com temperatura corporal podendo chegar a aproximadamente 37°C durante o meio do dia, e fase de hibernação durante o inverno seco e de temperaturas amenas no sudeste brasileiro (Abe,

1995; Lopes e Abe, 1999; Andrade et al., 2004; Sanders et al., 2015; Zena et al., 2020). Durante a hibernação, os teiús recolhem-se em abrigos sob o solo e permanecem com reduzida taxa metabólica entre maio e agosto (Abe, 1995). Em diferentes espécies, como humanos, por exemplo, o desuso prolongado (inatividade física) normalmente resulta em aumento da porosidade óssea, diminuição da força e da densidade mineral, o que facilmente leva a fraturas (Wojda, et al., 2016). Além disso, a inatividade física pode ocasionar atrofia muscular por desuso. Em humanos, por exemplo, essa atrofia por imobilização apresenta um padrão em que a massa muscular é perdida precocemente, antes que a atrofia se estabilize (Bodine, 2013). No caso do teiú, e outros animais que hibernam ou estivam, em geral o retorno à atividade após a fase de redução metabólica é caracterizada por comportamentos reprodutivos (Buck e Barnes, 1999; Navas e Carvalho, 2010; Sanders et al., 2015; Zena et al., 2019; 2020), o que não condiz com uma condição de hipotrofia muscular e óssea. De fato, há dados na literatura de ausência de redução de massa óssea e muscular em esquilos e ursos pós-hibernação (Lennox e Goodship, 2008; Utz et al., 2009; Bogren et al., 2016; Doherty et al., 2016) mas esse conhecimento não está disponível para o caso dos teiús.

O lagarto *S. merianae*, apresenta uma característica peculiar que é uma endotermia facultativa durante a fase reprodutiva (Sanders et al., 2015; Tattersall et al., 2016), o que traz implicações importantes para sua fisiologia, relacionadas aos elevados gastos energéticos e às mudanças comportamentais. Além, disso também traz insights sobre questões relacionadas à evolução da endotermia (Farmer, 2016). Além disso, variações morfológicas e metabólicas relacionadas ao padrão de ciclos sazonais da espécie já foram descritos, como por exemplo a reorganização estrutural do tecido cardíaco e das vilosidades da parede do tubo gastrointestinal e temperatura corporal durante a fase de hibernação (de Souza et al., 2004; Toledo et al., 2008; da Silveira et al., 2013; do Nascimento et al., 2016). Mudanças sazonais nas concentrações plasmáticas dos hormônios da tireóide, glicocorticóides e reprodutivos também são conhecidas (Chamut et al., 2012; Zena et al, 2019; Sánchez-Loria et al., 2021).

### **3.2 Técnicas para mensurar a composição corporal**

Existem técnicas invasivas ou *in vitro* que permitem a mensuração da composição corporal total ou de apenas um dos componentes corporais citados anteriormente. Essas englobam inalação ou injeção de agentes que se acumulam na água ou na gordura, ou também dissecação e análise química de cadáveres, sendo que nesse último caso ocorre a perda do animal e impossibilita avaliar mudanças temporais na composição corporal no mesmo indivíduo (Borga et al., 2018). Uma técnica invasiva, mas não fatal conhecida como absorção de ciclopropano já foi utilizada para estimar com precisão a massa lipídica em *Trachemys scripta* (Henen, 1991). Esta técnica permite estimar a massa lipídica por meio da absorção do gás ciclopropano pelos componentes lipídicos do animal (Lesser et al., 1960). Por outro lado, também temos uma variedade de técnicas não-invasivas que vão desde aquelas mais simples como os índices de condição corporal até as mais complexas como a tomografia computadorizada quantitativa. Os índices de condição corporal são muito utilizados para se estimar os estoques de energia do indivíduo por meio de medidas de massa e comprimento do animal e assim associar com possíveis patologias, condição de reprodução e possibilidade de sobrevivência ou não (Hayes e Shonkwiler, 2001; Stevenson e Woods Jr, 2006). Apesar de ser uma técnica não invasiva e facilmente aplicável em estudos de campo de várias espécies (Fitzgerald et al., 1993; Guinet et al., 1998; Secor e Nagy, 2003; McWilliams e Whitman, 2013; Falk et al., 2017), não é possível determinar valores precisos e diretos dos componentes da composição corporal. Por outro lado, há técnicas de medidas indiretas da composição corporal, porém que não são facilmente aplicáveis em campo, como por exemplo a pesagem hidrostática (densitometria), a pletismografia de deslocamento de ar (ADP), a análise de impedância bioelétrica (BIA) e condutividade elétrica corporal total (TOBEC) (Cochran et al., 1986; McWilliams e Whitman, 2013; Borga et al., 2018).

Técnicas não invasivas mais modernas, em grande parte, são baseadas em energias eletromagnéticas ou mecânicas e permitem uma mensuração quantitativa e mais precisa de cada um dos componentes da composição corporal (Scholz et al., 2015; Andreoli et al., 2016). Em geral, estas técnicas

atuam em nível molecular ou atômico, por meio de energias emitidas pelos aparelhos podendo ser ondas sonoras, radiação X ou ondas de radiofrequência (Scholz et al., 2015). Dentre essas técnicas, podemos destacar algumas, como a tomografia computadorizada (CT), que funciona com um feixe e energia única e se obtém um coeficiente de atenuação de massa de tecido que posteriormente é transformado nas unidades Hounsfield (HU), podendo assim distinguir gordura, músculo e osso, já que cada um destes tem diferentes valores de HU (Kalender, 2006; Borga et al., 2018; Mundi et al., 2019). Essa técnica já foi utilizada para avaliar a composição corporal de vários grupos de animais com resultados satisfatórios, por exemplo, jabutis (dePersio, et al., 2019) cágados (Newman, et al., 2019), frangos (Milisits et al., 2013), coelhos (Nagy et al., 2006). Além da CT, outras técnicas não invasivas já foram e são utilizadas para a mensuração da composição corporal com boa precisão: imagem por ressonância magnética (Scholz et al., 2015; Borga et al., 2018), ressonância magnética quantitativa (Mitchell et al., 2011; McWilliams e Whitman, 2013; Warner et al., 2016) e imagens de ultrassom (Dietz et al., 1999; Bazzochi et al., 2016; Mundi et al., 2019). Outra técnica não invasiva que receberá destaque nesse estudo é a absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA), que é descrita em detalhes adiante.

### ***3.3 Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia (DEXA)***

A DEXA opera irradiando o corpo com dois feixes de raios-X de diferentes níveis de energia e usando um coeficiente de atenuação dos dois feixes para diferenciar e quantificar os diferentes tecidos que compõem o corpo do animal, fornecendo valores de massa mineral óssea, massa magra e massa de gordura (Pietrobelli et al, 1996; Mitchell et al., 1997; Mitchell et al., 2001; Nagy, 2001). Na DEXA o animal permanece vivo e, com isso, podemos reduzir o número de animais e reutilizar os mesmos indivíduos, o que é fundamental para estudos longitudinais que avaliem mudanças sazonais da composição corporal, além de estudos de bioenergia, história de vida e ligação entre condição corporal e fisiologia (Secor e Nagy, 2003). Além disso, uma técnica que permite reduzir o número amostral e aumentar a repetição no mesmo indivíduo é de grande valia

para estudos com animais raros, selvagens ou em perigo de extinção. A DEXA ainda apresenta outras vantagens para a realização de estudos longitudinais, como por exemplo, a baixa emissão de radiação, facilidade no manuseio do equipamento e boa precisão nas medidas.

A técnica é amplamente utilizada para determinar a composição corporal de humanos, outros mamíferos (Toll et al., 1994; Rose et al. , 1998; Elowsson et al. al., 1998; Lukaski et al., 1999; Nagy e Clair, 2000; Black et al. 2001; Kastl et al., 2002; Castañeda et al., 2006; Stevenson e van Tets, 2008; LeeHong et al., 2020), aves (Dirrigl, et al., 2004; Korine et al. 2004; Swennen et al., 2004; Schreiweis et al., 2005; Gonçalves et al., 2018), peixes (Johnson et al., 2017; Lovett et al., 2019;) e em anfíbios (Park et al., 2021a; Park et al., 2021b). Em répteis, os estudos são escassos, limitando-se a poucas espécies, uma de serpente (Secor e Nagy, 2003), uma de cágado (Stone, et al., 2010), e duas espécies de jabutis (Fledelius, et al., 2005; Gramanzini, et al., 2013). Para lagartos, temos dois estudos com *Iguana iguana* (Zotti, et al 2004; Greer et al., 2006), com foco na relação entre doença óssea metabólica e densidade mineral óssea. Mais recentemente, um estudo de Sion et al (2021) traz uma comparação entre DEXA, extração química de gordura e índices calculados na lagartixa israelense (*Ptyodactylus guttatus*). A DEXA já provou ser tão precisa ou mais precisa do que quaisquer outros métodos não-invasivos quando é feito uma validação da técnica (Secor e Nagy, 2003). No entanto, não temos na literatura um estudo com lagartos que apresente uma validação da técnica de DEXA para mensurar os componentes da composição corporal.

## 4. OBJETIVOS

---

Em vista das evidências expostas acima, os objetivos do presente estudo foram:

- Validar a técnica não invasiva de absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA), a partir da comparação com análise química direta, para mensurar cada componente da composição corporal de lagartos *S. merianae*.
  
- Utilizar a DEXA para mensurar a composição corporal e avaliar variações nesta composição em diferentes fases do ciclo-anual (pré-hibernação, hibernação, pós-hibernação, reprodução e atividade de verão) em lagartos *S. merianae*.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 5.1 Animais

Dezessete lagartos teiús adultos (*Salvator merianae*) foram utilizados neste estudo (Licença SISBio 67600-1; 67600-2). Seis desses animais foram utilizados para o protocolo de validação, sendo 4 machos e 2 fêmeas com massa corporal de 1285 a 3191g (Tabela 1). Os onze animais restantes (6 machos e 5 fêmeas), com massa corporal inicial entre 1800 a 3900g, foram utilizados no protocolo de variação sazonal da composição corporal. Todos os animais foram mantidos na UNESP-Jaboticabal em um recinto único (42 m<sup>2</sup>), cercado por muro, mas sujeito às mudanças naturais do clima, como variações de temperatura, fotoperíodo e precipitação, contendo áreas cobertas e uma área com exposição à luz solar direta. Havia abrigos para os animais passarem as noites e a fase de hibernação. Eles tiveram livre acesso à água durante todo o ano, e foram alimentados com ovos de galinha, camundongos, frutas diversas, baratas *Nauphoeta cinerea* suplementadas com cálcio e vitamina D3, duas a três vezes por semana, exceto durante o jejum natural de hibernação no inverno (Abe, 1995; Andrade, et al., 2004). Os experimentos foram conduzidos com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) local da FCAV / UNESP (protocolo 008948/18).

### 5.2 Medidas da Composição Corporal por DEXA

Durante o escaneamento pela técnica DEXA, é necessário que o animal esteja imóvel, portanto, os animais foram anestesiados durante o procedimento. A indução anestésica foi realizada com isoflurano 5% em oxigênio 100% ventilado em máscara conectada em circuito aberto. Após a indução, a traqueia do animal recebeu um tubo endotraqueal de tamanho adequado, mantendo ~ 1 Vol% de anestésico com fluxo de oxigênio de 0,5 L.min<sup>-1</sup> por meio de um vaporizador (VetCase, Brasmed, São Paulo, Brasil). Cada animal anestesiado foi colocado em decúbito dorsal sobre a mesa do equipamento de DEXA (modelo

Discovery; Hologic; EUA; Fig. 1), sem reposicionamento, e foi escaneado 3 vezes, com cada varredura de análise de corpo inteiro durando aproximadamente 5 minutos. Os dados foram adquiridos do software (Hologic APEX) que acompanha o equipamento, e os valores em gramas de massa magra (MM), massa de gordura (MG) e Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) de cada indivíduo foram determinados a partir da média de escaneamentos em triplicata. Todos os escaneamentos DEXA foram realizados no Laboratório de Densitometria da Unesp em Jaboticabal, sob responsabilidade da Profa. Dra. Silvana B. Artoni.



**Figura 1.** Representação do posicionamento do animal anestesiado para varredura de análise de corpo inteiro no DEXA. A movimentação da mesa nos sentidos rostro-caudal e lateral permite o escaneamento (haste com identificação: Hologic) do corpo inteiro do animal. A anestesia foi mantida por ventilação com isoflurano em O<sub>2</sub>, através do tubo endotraqueal. Detalhes no texto. Foto do autor.

### **5.3 Análise Química da Composição Corporal**

Como mencionado acima, o protocolo de validação da técnica de DEXA a partir da análise química direta foi realizado em seis animais (4 machos e 2 fêmeas; 1285-3191g; Tabela 1), baseado em estudos prévios em serpentes (Secor & Nagy, 2003) e aves (Swennen et al., 2004; Gonçalves et al., 2018). Os escaneamentos para a validação foram realizados entre os meses de setembro, outubro e novembro. Logo após as medidas de DEXA, os animais tiveram seu

plano anestésico aprofundado pela administração intravenosa de Propofol (10mg / kg) na veia coccígea ventral seguido da administração intracardíaca de KCl (19%) para obtenção da perda da função contrátil miocárdica. Em seguida, o animal foi dissecado para determinação da massa úmida das vísceras, corpos gordurosos, pele e carcaça remanescente (ossos e músculos). Em seguida, as partes corporais foram congeladas separadamente a -20°C.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Laboratório de Avicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - SP. Cada carcaça de animal (músculo e ossos), ainda congelada, foi fatiada em pedaços menores com o auxílio de uma serra de fita, e triturada junto com as vísceras limpas (exceto os corpos gordurosos) em um moedor de carne para obtenção de uma amostra homogênea. A pele foi picada manualmente com uma faca em pedaços menores. Em seguida, amostras de pele e da carcaça (ossos, vísceras e músculos) foram coletadas em uma placa de Petri, pesadas e congeladas por no mínimo 48 horas em -80°C para posteriormente serem liofilizadas em vácuo por 4 dias a -60°C (Edwards Super Modulyo, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Em seguida, as amostras foram pesadas novamente para determinação de sua massa seca. Cada amostra seca foi pulverizada com auxílio de um moinho de bolas, para as amostras da carcaça e um moinho de faca para as amostras de pele.

As análises químicas das amostras pulverizadas foram determinadas de acordo com os métodos padrão descritos no livro Official Methods of Analysis da Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 2005). A massa de cinzas (MC) foi determinada por incineração em mufla a 600°C por 4 horas (método 942,05). A proteína bruta (PB) foi obtida pelo método Kjeldahl (Método 2001.11, Kjeltex 8400, Foss, Eden Prairie, MN, EUA). A massa de gordura (MG) foi determinada pelo extrator AnkomXT15 (ANKOM Technology, Macedon, NY, EUA) com solvente de éter de petróleo (método 920.39).

As massas seca e úmida totais foram calculadas como a soma das massas seca e úmida, respectivamente, da carcaça (músculos, ossos e vísceras) + pele. O conteúdo de água corporal total (CACT) foi determinado pela diferença entre a massa total úmida e seca. A massa total de cinzas (MC) foi obtida multiplicando-se o a massa de cinzas das subamostras x massa seca da

pele e da carcaça. A massa de cinzas corresponde ao conteúdo mineral ósseo (CMO), formado principalmente por cálcio (Casez et. Al., 1994). A massa de gordura (MG) foi calculada somando-se a massa dos corpos gordurosos dissecados + massa de gordura da carcaça e da pele. A massa de proteína corporal total (PC) foi obtida multiplicando-se a quantidade de proteína bruta (PB) das subamostras x massa seca da pele e da carcaça + o conteúdo de água corporal total (CACT). No nosso estudo, consideramos que o valor de proteína corporal é a soma da proteína bruta (PB) da massa seca mais o conteúdo de água corporal total (CACT), com base no estudo de Gonçalves, et al. (2018).

#### ***5.4 Medidas sazonais da Composição Corporal por DEXA***

Para avaliar as variações sazonais na composição corporal, foram utilizados 6 machos e 5 fêmeas com peso inicial entre 1800 a 3900g. Escaneamentos de DEXA foram realizados para obter os valores de massa magra (MM), massa de gordura (MG) e conteúdo mineral ósseo (CMO). As varreduras foram feitas nos meses de janeiro, março, junho, agosto e outubro, representando respectivamente as fases de atividade, pré-hibernação, hibernação, pós-hibernação e reprodução. A determinação dos meses avaliados baseou-se no padrão de variações sazonais marcantes da espécie apresentado anteriormente (Abe, 1995; Lopes e Abe, 1999; Andrade et al., 2004; Sanders et al., 2015; Zena et al., 2020).

#### ***5.5 Imagens de Ultrassonografia***

Para se determinar a relação entre a massa total de gordura corporal e a massa de gordura dos corpos gordurosos, estes foram identificados e mensurados via imagens de ultrassonografia em indivíduos machos (n= 4) e fêmeas (n=4) que foram escaneados por DEXA em cinco momentos do ano, nos meses de janeiro, março, junho, agosto e outubro. A ultrassonografia foi realizada no Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias de Jaboticabal, UNESP, com o auxílio da veterinária Marina Emanoella Seruti Pelógia.

## **5.6 Análises de dados e estatística**

Primeiramente realizamos o teste de correlação de Pearson (pacotes dplyr e corrplot no software RStudio, versão 4.1.0) entre os valores em gramas de DEXA e os obtidos por análise química, ou seja: DEXA CMO comparado ao MA observado na análise química; DEXA MM comparado ao PC observado; e DEXA MG comparado ao MG observado na análise química. Pressupostos de normalidade (Teste de Shapiro Wilk) e ausência de outliers, foram atendidos para o teste de correlação de Pearson.

Modelos de regressão linear simples e múltipla (pacotes dplyr, rstatix, QuantPsyc, psych e lmtest no software RStudio versão 4.1.0) foram construídos para prever a massa de cinzas, água corporal total, massa de gordura e proteína corporal a partir de valores obtidos em varreduras DEXA. Pressupostos de normalidade dos resíduos (Teste de Shapiro Wilk), ausência de outliers de resíduos e homocedasticidade (teste de Breusch-Pagan), foram atendidos para os testes de regressão linear simples e múltipla:

$$\text{Regressão Simples: } Y = \beta_0 + \beta_1 \times X + \varepsilon$$

Onde: Y é o componente em gramas (MA, PC, MG ou CACT);  $\beta_0$  é o intercepto;  $\beta_1$  é o coeficiente de regressão; X é o valor da variável mensurada em gramas (DEXA CMO, MM ou MG);  $\varepsilon$  é o termo de erro.

$$\text{Regressão múltipla: } Y = \beta_0 + \beta_1 \times X_1 + \beta_2 \times X_2 + \varepsilon$$

Onde: Y é o componente em gramas (MA, PC, MG ou CACT);  $\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  são coeficientes de regressão; X1 e X2 são valores das variáveis mensuradas em gramas;  $\varepsilon$  é o termo de erro.

Para demonstrar o poder preditivo de nossas equações, realizamos um teste de correlação de Pearson entre os valores previstos para cada componente (MA, PC, MG ou CACT) com os valores observados desses componentes na análise química, análise feita utilizando os pacotes dplyr e corrplot no software RStudio (versão 4.1.0). Em seguida, foi realizado um teste *t* pareado, por meio dos pacotes dplyr e psych no software RStudio (versão 4.1.0), para identificar se havia diferenças entre as médias de cada componente previsto e observado.

Para analisar a variação sazonal do tamanho dos corpos gordurosos por meio do ultrassom, utilizamos o teste de correlação de Pearson (pacotes dplyr e corrplot no software RStudio, versão 4.1.0), assim comparamos valores em grama da massa de gordura gerada pelo DEXA com diferentes medidas de tamanho dos corpos gordurosos. Usamos diferentes medidas dos corpos gordurosos para definir qual teria maior correlação com a variação da massa de gordura. As primeiras correlações foram feitas utilizando apenas uma medida, portanto somamos o comprimento (cm) ou a largura (cm) ou a espessura (cm) dos dois corpos gordurosos e correlacionamos com a massa de gordura dada pelo DEXA. Em seguida, fizemos cálculos para definir a área em cm<sup>2</sup> de cada um dos corpos gordurosos utilizando duas das três medidas (comprimento x largura, comprimento x espessura e largura x espessura) e para ter a área total em cm<sup>2</sup> foi feita a soma dos valores dois corpos gorduroso. Por fim, na última correlação calculamos o volume (cm<sup>3</sup>; comprimento x largura x espessura) de cada corpo gorduroso e depois somamos os dois para ter o volume total.

Para a análise dos dados longitudinais de composição corporal por DEXA, foi utilizada ANOVA mista por meio dos pacotes dplyr e ez no software RStudio (versão 4.1.0). O desenho misto é aquele que possui tanto uma variável independente do tipo entre-sujeito (no nosso caso será o Sexo), quanto uma variável independente do tipo intra-sujeito (que aqui são as Fases: Pré-hibernação, Hibernação, Pós-hibernação, Reprodução e Atividade). Foram realizadas as análises de massa de cinzas (MA), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT). Primeiramente, os valores preditos para cada componente foram adquiridos por meio das equações modelo de predição geradas anteriormente no protocolo de validação e utilizando como base os valores obtidos pelos escaneamentos do DEXA em

gramas. Subsequentemente, os valores preditos em gramas foram transformados em uma base relativa (%) para a massa total in vivo (MT), da seguinte forma:

$$Y\% = (CC_{\text{PREDITO}}/MT) \times 100$$

Onde:  $CC_{\text{PREDITO}}$  é o componente corporal predito pelos modelos matemáticos (MA, PC, MG ou CACT em gramas); MT é a massa corporal total em gramas.

Testes de pressupostos para a ANOVA mista, de normalidade (teste de Shapiro Wilk), ausência de outliers e homocedasticidade de variâncias (teste de Levene), foram realizados utilizando o pacote rstatix no software Rstudio (versão 4.1.0), previamente para os dados de cada componente corporal. Todas as premissas foram atendidas. As diferenças entre as médias foram ainda determinadas pelo teste post-hoc de Bonferroni, utilizando o pacote emmeans no software RStudio (versão 4.1.0).

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software RStudio (versão 4.1.0). Relatamos os resultados de nossas análises estatísticas em termos de seus valores  $r$ ,  $r^2$  e  $p$ . O nível de significância estatística foi designado como  $P < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Análise Química da Composição Corporal

A análise química de 6 indivíduos de teiús (Tabela 1) mostrou que  $4,4 \pm 1,4\%$  da sua massa corporal total é constituída por minerais (conteúdo de cinzas), com uma variação de 3,0 a 5,5 %. Já a massa magra representou em média  $89,6 \pm 1,4\%$  da massa total, variando de 88,6 a 92,1%. A massa de gordura correspondeu em média a  $6,0 \pm 2,7\%$  da massa Corporal total, tendo variado aqui de 2,3 a 7,8 %. Por fim, o conteúdo de água corporal total foi em média  $67,9 \pm 3,5\%$  da massa total dos indivíduos, variado entre 66,3 a 71,4%.

**Tabela 1.** Massas corporais úmida e seca, conteúdos de água corporal total, de massas magras úmida e seca, de massa de gordura e de massa de cinzas a partir de análise química de indivíduos machos (M) e fêmeas (F) de lagartos teiú *Salvator merianae*.

Sexo	CRC (cm)	Massa Corporal (g)		Conteúdo de água corporal total (g)	Massa Magra (g)		Gordura (g)	Cinzas (g)
		úmida	seca		úmida	seca		
M	31,5	1284,6	367,5	917,1	1183,7	266,6	29,7	71,2
F	33,0	1460,4	451,7	1008,7	1302,1	293,9	113,2	44,5
F	37,5	2135,0	676,7	1458,4	1891,4	433,1	129,8	113,8
M	41,0	2409,5	800,8	1608,7	2176,3	567,6	135,6	97,6
M	40,0	2813,9	894,2	1919,7	2532,5	612,8	168,5	112,8
M	42,5	3191,0	956,3	2116,8	2827,1	710,3	224,6	139,3
Média	37,6	2215,7	691,2	1504,9	1985,5	480,7	133,6	96,5
Porcentagem da massa corporal (úmida)			31,2±2,6%	67,9±3,5 %	89,6±1,5%	21,7±1,9%	6,0±2,7%	4,4±1,4%
Variação			28,6 - 33,2%	66,3 - 71,4%	88,6 - 92,1%	20,1 - 23,6%	2,3 - 7,8%	3,0 - 5,5%

CRC: comprimento rostro-cloacal

## 6.2 Validação da Técnica DEXA

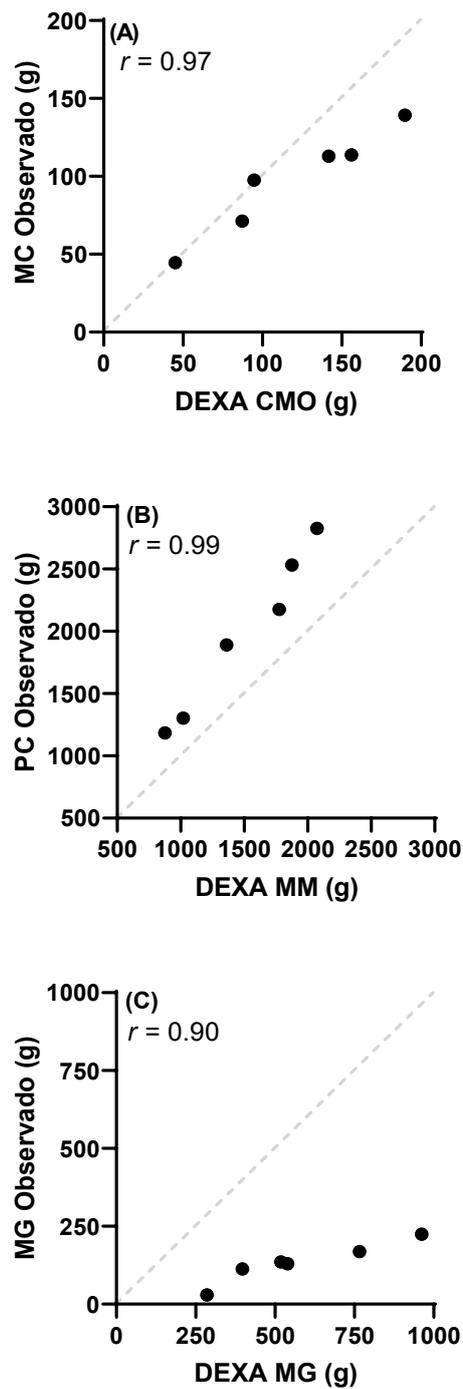
Os dados obtidos nos escaneamentos por absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) e utilizado para o protocolo de validação são mostrados na Tabela 2. A tabela apresenta a média e desvio padrão para os três escaneamentos de cada animal e para os três componentes corpóreos que o DEXA fornece. Além disso, calculamos o Coeficiente de Variação Intra-individual (CV %) para os três escaneamentos que em média foi  $2,9 \pm 1,4\%$  para a CMO,  $3,1 \pm 1,8\%$  para MM e  $8,9 \pm 3,9\%$  para MG.

**Tabela 2.** Massa corporal total (MC) e média da triplicata de escaneamento de DEXA para conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG) de indivíduos machos (M) e fêmeas (F) de lagartos teiús (*S. merianae*).

Sexo	MC (g)	CMO			MM			MG		
		Média (g)	DP	CV (%)	Média (g)	DP	CV (%)	Média (g)	DP	CV (%)
M	1249,8	87,3	4,0	4,6	876,7	23,3	2,7	285,8	19,6	6,9
F	1460,9	45,0	1,7	3,8	1018,9	50,8	5,0	397,0	48,3	12,2
F	2056,5	156,0	1,0	0,6	1360,6	23,7	1,7	539,9	27,1	5,0
M	2390,1	94,7	3,1	3,2	1776,8	46,9	2,6	518,6	48,9	9,4
M	2784,4	141,7	4,5	3,2	1876,3	100,7	5,4	766,4	111,0	14,5
M	3226,6	189,7	3,8	2,0	2074,9	19,7	0,9	962,0	49,8	5,2
Médias:	2194,7	119,1		$2,9 \pm 1,4$	1497,4		$3,1 \pm 1,8$	578,3		$8,9 \pm 3,9$

DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação (%)

Nossas análises mostraram que os valores de DEXA para CMO, MM e MG são altamente correlacionadas (valores de  $p < 0.05$ , valores de  $r$  0.97, 0.99 e 0.90) com os valores observados na análise química para MC, PC e MG, respectivamente (Fig. 2).



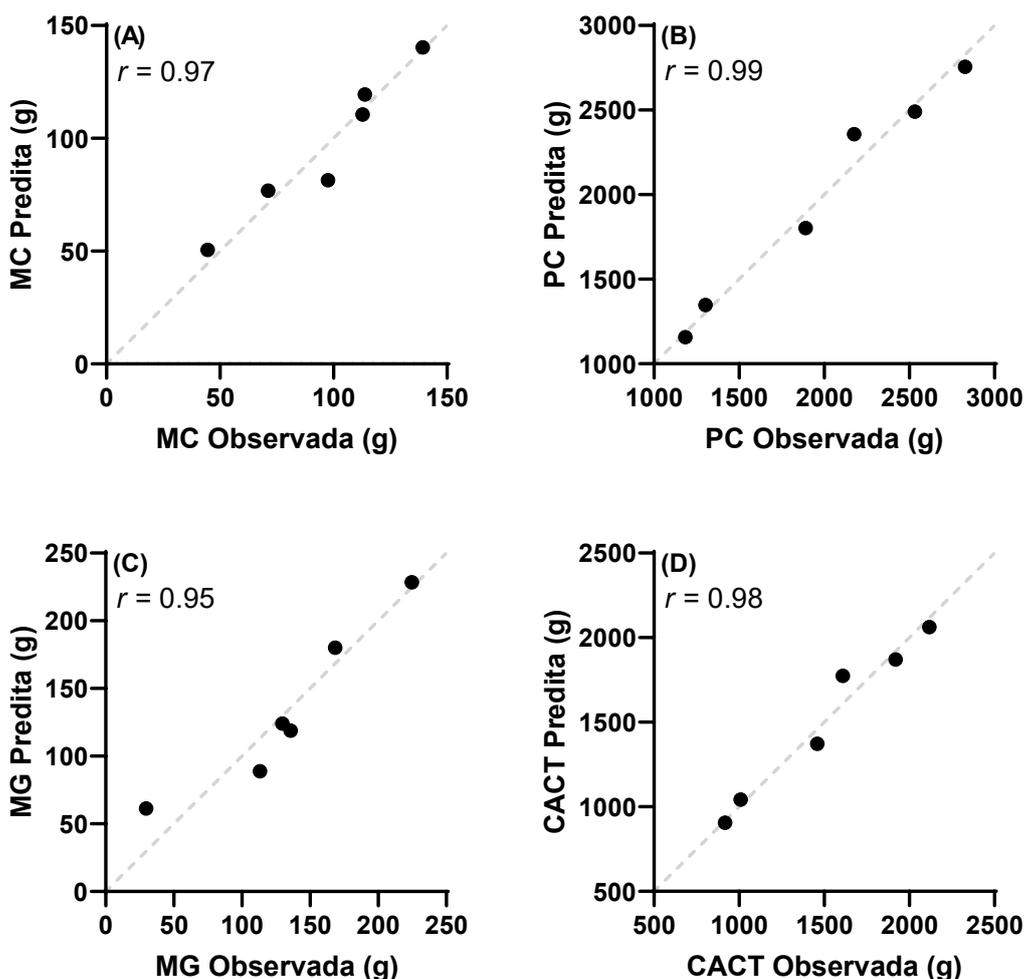
**Figura 2.** Medidas a partir da DEXA de conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG) plotadas em relação a (A) massa de cinzas (MC), (B) proteína corporal (PC) e (C) massa de gordura (MG) determinadas por meio de análise química da composição corporal de seis lagartos teiús (*Salvator merianae*). Para cada componente corporal, a massa calculada pelo DEXA foi significativamente correlacionada com a determinada pela análise química. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre DEXA e os valores observados de composição corporal.

Modelos de regressão simples foram construídos e provaram ser os melhores para prever MC, PC, MG e CACT usando DEXA (Tabela 3). A equação preditiva para MC ( $r^2 = 0.94$ ) inclui os valores de DEXA para CMO, enquanto os valores de PC e CACT foram mais bem previstos ( $r^2 = 0.98$  e  $0.96$ , respectivamente) usando medidas de DEXA para MM. Para MG, a melhor equação preditiva ( $r^2 = 0.90$ ) utiliza os dados DEXA para MG. Fizemos uma correlação entre os valores previstos nestas equações e os valores observados na análise química e obtivemos valores de  $r$  iguais a 0.97, 0.99, 0.95 e 0.98 para MC, PC, MG e CACT, respectivamente (Fig. 3).

**Tabela 3.** Equações modelos de regressão para prever a massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) a partir de medidas de absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) de massa magra (MM), massa de gordura (MG) e conteúdo mineral ósseo (CMO) para lagartos teiús (*Salvator merianae*).

Variável Dependente (g)	Modelo	$r^2$	Erro Padrão Residual
Massa de Cinzas (MC)	$= 0,6203*(DEXA_{CMO}) + 22,69$	0.94	9,571 on 4 DF
Proteína Corporal (PC)	$= 1,333*(DEXA_{MM}) - 10,61$	0.98	112,2 on 4 DF
Massa de Gordura (MG)	$= 0,2470*(DEXA_{MG}) - 9,269$	0.90	22,69 on 4 DF
Conteúdo de Água (CACT)	$= 0,9664*(DEXA_{MM}) + 57,84$	0.96	101,9 on 4 DF

As equações foram desenvolvidas a partir da composição corporal e medidas de DEXA de seis lagartos teiús. São apresentados para cada equação o  $r^2$  e o Erro Padrão Residual.



**Figura 3.** Massas previstas com base na equação modelo para massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) plotada em relação a **(A)** MC, **(B)** PC, **(C)** MG e **(D)** CACT observadas na análise química da composição corporal de seis lagartos teiús *Salvator merianae*. Para cada componente corporal, a massa prevista pelo modelo foi altamente correlacionada com aquela determinada pela análise química. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre valores previstos pelas equações e os valores observados de composição corporal nas análises químicas.

Por fim, foi realizado um teste  $t$  pareado para avaliar diferença entre as médias de cada componente corporal (Tabela 4). Não houve diferença significativa ( $t(5) = 0,00038$ ;  $p = 0,9997$ ) entre a massa de cinzas (MC) observada na análise química e a massa de cinzas (MC) prevista pelas equações geradas (0,0013 gramas; com e intervalo de confiança de 95%: -8,98 e 8,99). Não houve também diferença significativa ( $t(5) = -0,0052$ ;  $p = 0,9961$ ) entre a massa de proteína corporal (PC) observada na análise química e a massa de PC

prevista pela equação (-0,212 gramas e com intervalo de confiança de 95 por cento: -105,55 e 105,13). Para massa de gordura, também não houve diferença significativa ( $t(5) = -0,00104$ ;  $p = 0,9992$ ) entre a MG observada na análise química e aquela prevista pela equação (-0,0086 gramas e com intervalo de confiança de 95%: -21,31 e 21,29) a média da MG prevista ( $t(5) = -0,00104$ ;  $p = 0,9992$ ). Por fim, não houve também diferença significativa ( $t(5) = 0,00044$ ;  $p = 0,9997$ ) entre o conteúdo de água corporal total (CACT) observada na análise química e o CACT previsto pela equação (0,0163 com intervalo de confiança de 95%: 95,60 e 95,64).

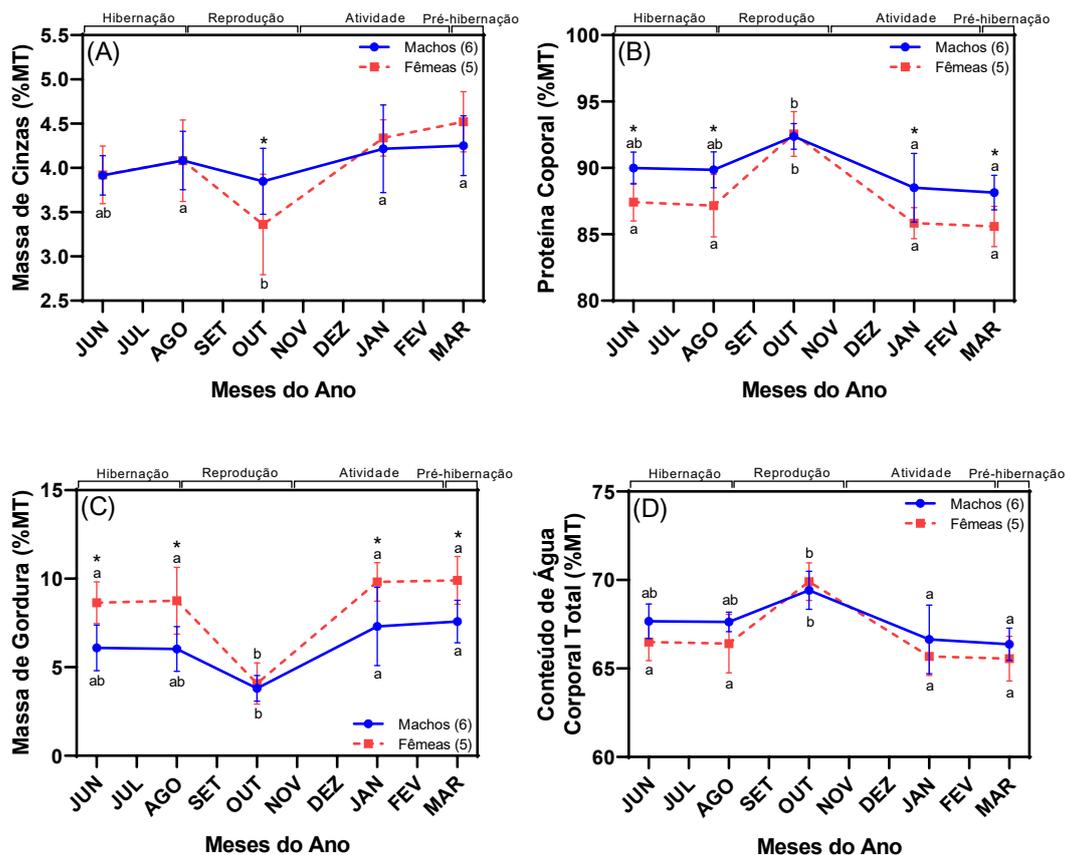
**Tabela 4.** Valores mínimos e máximos, média, diferença entre médias e intervalo de confiança para valores observados em análise química e preditos pelas equações para os componentes corporais massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT) de lagartos teiús *Salvator merianae*. Valores obtidos por meio do teste *t* Pareado.

	MC		PC		MG		CACT	
	Observada	Predita	Observada	Predita	Observada	Predita	Observada	Predita
Valor Mínimo (g)	44,5	50,6	1184	1158	29,68	61,32	917,1	905,1
Valor Máximo (g)	139,3	140,3	2827	2755	224,61	228,34	2116,8	2063,1
Média (g)	96,5	96,5	1986	1985	133,58	133,57	1504,9	1504,9
Diferença entre médias (g)	0,0013		-0,2117		-0,0086		0,0163	
Intervalo de confiança de 95%	-8,98 e 8,99		-105,5 e 105,1		-21,31 e 21,29		-95,60 e 95,64	

### 6.3 Variação Sazonal da Composição Corporal

Os resultados da variação sazonal dos componentes corporais analisados (MC, PC, MG e CACT) relativos à massa corporal total estão representados na Figura 4. Os valores médios para cada Fase e Sexo da análise de variação sazonal de cada componente da composição corporal são apresentados na tabela 5. Enquanto que as Figuras 5 e 6, respectivamente mostram imagens geradas pelo DEXA para uma fêmea e para um macho ao longo das fases analisadas.

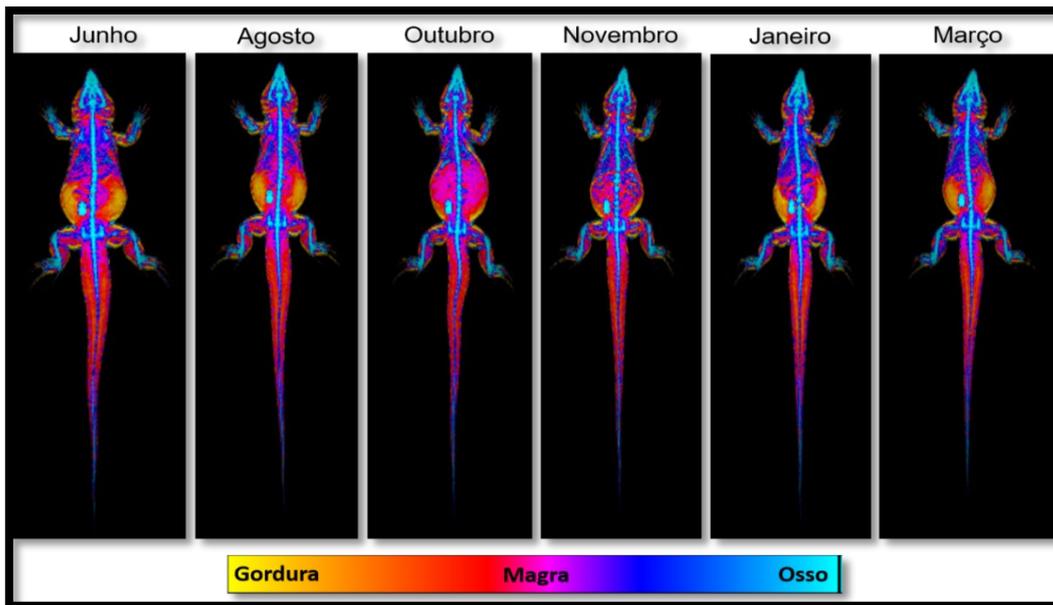
Análise da massa de cinzas (Fig. 4.A) mostrou efeitos significativos de Fase ( $p < 0,05$ ), mas não para Sexo ( $p = 0,92$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os sexos apenas para a fase reprodutiva (outubro). Os valores médios de % MC em relação à Massa Total das fêmeas mostraram que a fase de reprodução/outubro (3,36%) foi menor que as fases pós-hibernação/agosto (4,08%), atividade/janeiro (4,34%) e pré-hibernação/março (4,52%), mas não diferiu para fase de hibernação/junho (3,92%). Nos machos, não houve diferença entre as fases para MC. Para a proteína corporal (Fig. 4.B), foi observado um efeito significativo de Sexo e Fase ( $p < 0,05$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na comparação entre os sexos para todas as fases, com os machos apresentando valores maiores que as fêmeas, exceto na fase de reprodução ( $p = 0,85$ ). Os valores médios de %PC em relação à Massa Total das fêmeas foi maior ( $p < 0,05$ ) na fase de reprodução/outubro (92,6%) em comparação a todas as demais fases. Nos machos a fase de reprodução (92,4%) foi maior ( $p < 0,05$ ) em relação as fases de atividade (88,5%) e pré-hibernação (88,1%). Para a massa de gordura (Fig. 4.C), foi observado efeito significativo de Sexo e Fase ( $p < 0,05$ ), mas não para a interação Sexo:Fase ( $p = 0,18$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na comparação entre os sexos para todas as fases, com os machos apresentando valores maiores que as fêmeas, exceto Reprodução ( $p = 0,74$ ). Os valores médios de %MG em relação à Massa Total das fêmeas foi menor ( $p < 0,05$ ) na fase de reprodução/outubro (4,08%) em relação a todas as demais fases. Nos machos a fase de reprodução (3,80%) foi menor ( $p < 0,05$ ) em relação as fases de atividade (7,30%) e pré-hibernação (7,58%). Além disso, existe uma forte correlação (valor de  $r$  entre 0,77 e 0,85, dependendo de como foi calculado o tamanho dos corpos gordurosos) entre a variação do tamanho dos corpos gordurosos e a massa de gordura total dada pelo DEXA nesses animais (Fig. 7), sendo que a melhor correlação ( $r = 0,85$ ) foi a que utilizou a soma da área em  $\text{cm}^2$  (feita com as medidas de comprimento e largura; Fig. 7D) dos dois corpos gorduroso. Finalmente, os dados de Água Corporal Total (Fig. 4.D) mostraram um efeito significativo para Fase ( $p < 0,05$ ), mas não para Sexo ( $p = 0,20$ ). Os valores médios de %CACT em relação à Massa Total das fêmeas foi maior ( $p < 0,05$ ) na fase de reprodução (69,9%) em comparação a todas as demais fases. Nos machos a fase de reprodução (69,4%) foi maior ( $p < 0,05$ ) em relação as fases de atividade (66,6%) e pré-hibernação (66,4%).



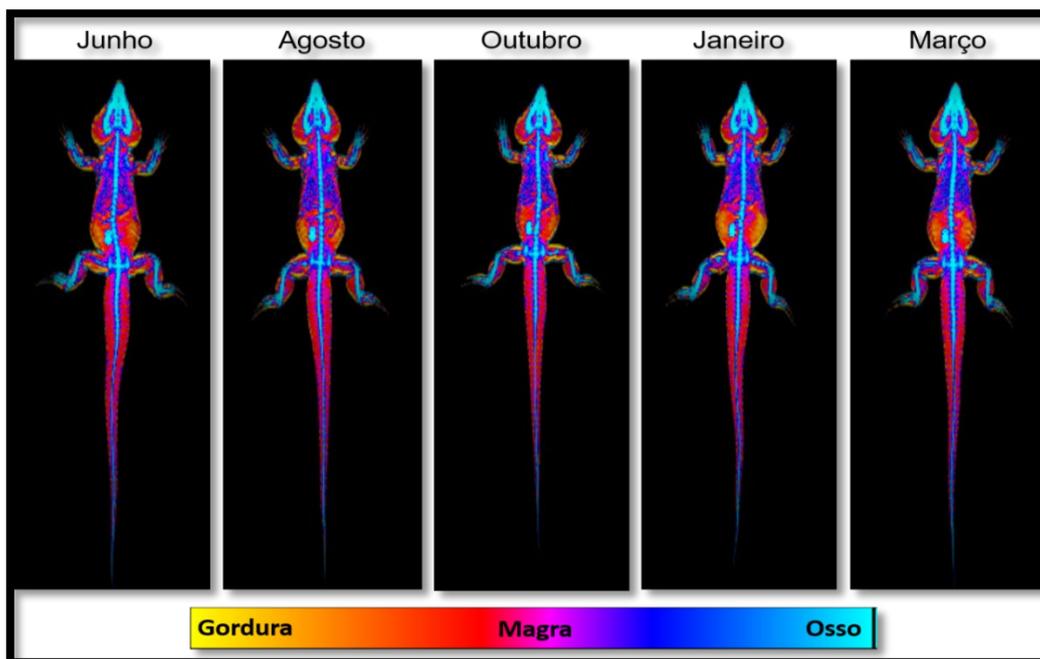
**Figure 4.** Variação média para machos e fêmeas da % de (A) massa de cinzas, (B) proteína corporal, (C) massa gordura e (D) conteúdo de água corporal total, em relação à massa corporal total (MT) durante um ciclo anual. Os asteriscos (\*) representam diferenças significativas entre os sexos. As letras “a”, “b” sinalizam que houve diferenças significativas entre as fases, para ambos os sexos.

**Tabela 5.** Valores médios de cada componente corporal, massa de cinzas (MC), proteína corporal (PC), massa de gordura (MG) e conteúdo de água corporal total (CACT), relativos à massa total corporal, e desvio padrão (DP) em machos (M) e fêmeas (F) do lagarto teiú (*S. merianae*), para cada fase do ciclo anual.

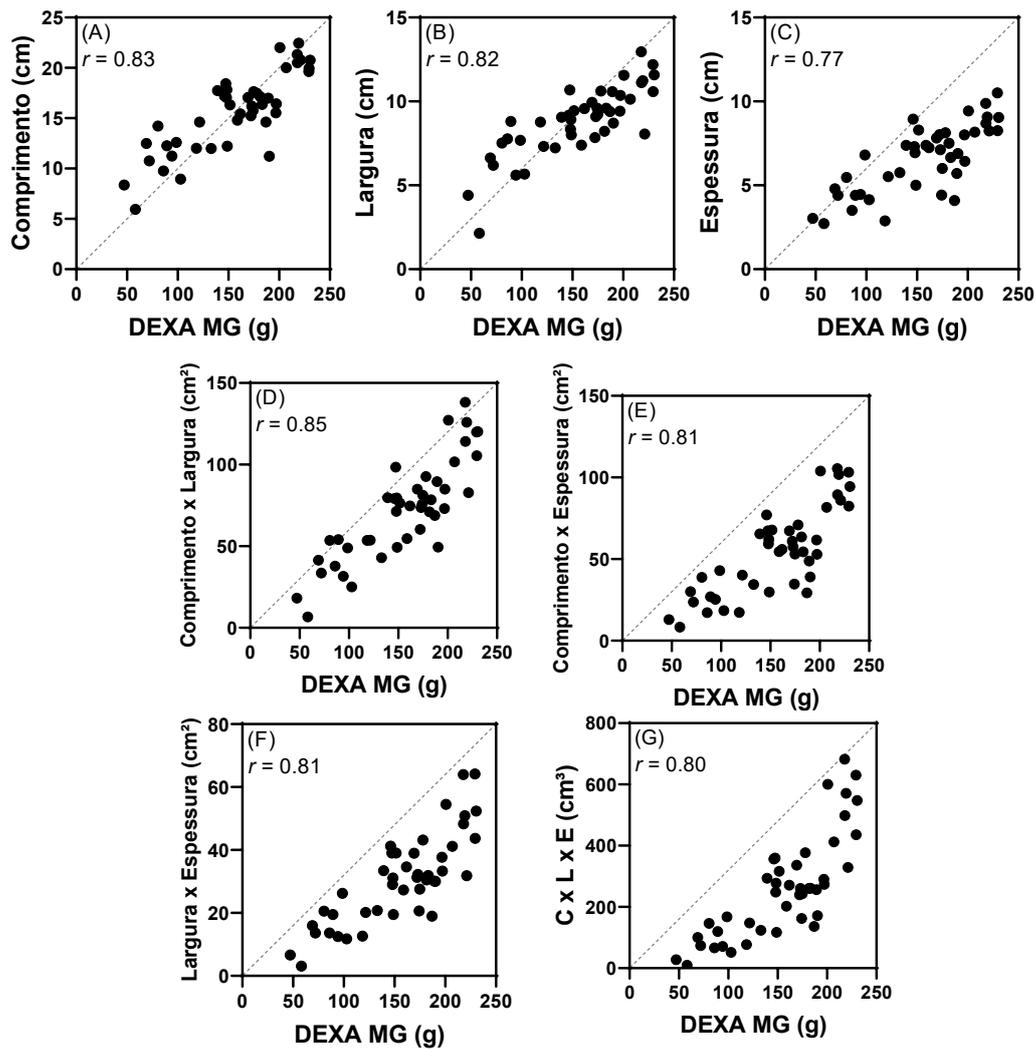
Sexo	Fase	Variáveis							
		Média MC (%)	DP	Média PC (%)	DP	Média MG (%)	DP	Média CACT (%)	DP
F	Hibernação	3.92	0.327	87.4	1.42	8.64	1.18	66.5	1.06
M	Hibernação	3.92	0.223	90.0	1.20	6.10	1.29	67.7	0.98
F	Pós-hibernação	4.08	0.460	87.2	2.35	8.76	1.90	66.4	1.66
M	Pós-hibernação	4.08	0.331	89.8	1.36	6.03	1.27	67.6	0.55
F	Reprodução	3.36	0.568	92.6	1.69	4.08	1.17	69.9	1.06
M	Reprodução	3.85	0.373	92.4	0.98	3.80	0.73	69.4	1.08
F	Atividade	4.34	0.207	85.8	1.17	9.82	1.09	65.7	1.08
M	Atividade	4.22	0.496	88.5	2.59	7.30	2.21	66.6	1.94
F	Pré-hibernação	4.52	0.342	85.6	1.52	9.90	1.36	65.6	1.27
M	Pré-hibernação	4.25	0.339	88.1	1.31	7.58	1.21	66.4	0.91



**Figura 5.** Imagens geradas pela DEXA para uma fêmea de lagarto *Salvator merianae* ao longo das fases de hibernação (junho), pós-hibernação (agosto), reprodução (outubro), pós-postura (novembro), atividade de verão (janeiro) e pré-hibernação (março). É possível notar a variação ao longo das fases dos tecidos moles, magro (cores entre rosa e vermelho) e gorduroso (cores entre laranja e amarelo). O retângulo em azul que se repete na posição inferior esquerda do abdômen é um *data logger* de temperatura implantado para outros objetivos.



**Figura 6.** Imagens geradas pela DEXA para um macho de lagarto *Salvator merianae* ao longo das fases de hibernação (junho), pós-hibernação (agosto), reprodução (outubro), atividade de verão (janeiro) e pré-hibernação (março). É possível notar a variação ao longo das fases dos tecidos moles, magro (cores entre rosa e vermelho) e gorduroso (cores entre laranja e amarelo). O retângulo em azul que se repete na posição inferior esquerda do abdômen é um *data logger* de temperatura implantado para outros objetivos.



**Figura 7.** Medidas por DEXA de massa de gordura (MG) plotadas em oposição a **(A)** soma do comprimento dos dois corpos gorduroso (cm); **(B)** soma da largura dos dois corpos gordurosos (cm); **(C)** soma da espessura dos dois corpos gordurosos (cm); **(D)** soma das áreas superficiais (comprimento x largura;cm<sup>2</sup>) dos dois corpos gordurosos; **(E)** soma da relação ; comprimento x espessura (cm<sup>2</sup>) dos dois corpos gordurosos; **(F)** soma da relação largura x espessura (cm<sup>2</sup>) dos dois corpos gordurosos; **(G)** soma dos volumes (cm<sup>3</sup>; comprimento x largura x espessura) dos dois corpos gordurosos. Medidas dos corpos gordurosos obtidas por ultrassom de oito lagartos teiús (*S. merianae*), em diferentes fases do ciclo anual. A linha tracejada representa uma correlação perfeita ( $r = 1$ ) entre MG por DEXA e as medidas de corpos gordurosos por ultrassom.

## 7. DISCUSSÃO

---

No presente estudo, foi possível demonstrar a variação da composição corporal de lagartos teiú *Salvator merianae* ao longo de seu ciclo anual por meio de técnica não invasiva de absorciometria de raios-x de dupla energia. A técnica do DEXA foi validada com sucesso, e assim verificou-se diferenças entre os sexos para massa de proteína corporal e massa de gordura e variações entre as fases do ciclo anual dos lagartos teiú para massa de proteína corporal, massa de gordura, conteúdos de água corporal total e para massa de cinzas, sendo este último apenas nas fêmeas.

O uso da DEXA ganhou destaque na década de 1990 com estudos sobre princípios físico-químicos e testes de validação e precisão da técnica para medir composição corporal (Mazzes, et al., 1990; Casez et al., 1994; Laskey et al., 1996; Pietrobelli et al., 1996; Jebb et al. 1997; Kelly et al., 1998). Inicialmente, o DEXA foi desenvolvido para uso em humanos (Peppler e Mazess, 1981) e atualmente é considerado uma excelente ferramenta para estudos relacionados principalmente à densidade mineral óssea, como nos casos de osteoporose (Shevroja et al., 2021). Portanto, o software que acompanha o equipamento é otimizado para realizar cálculos de composição corporal em humanos adultos e pode ser aprimorado com o estudo da composição corporal quimicamente determinada de diferentes populações (Mitchell et al., 1997). Mesmo sendo hoje uma técnica precisa e exata, é necessário saber o grau de erro para as mais diversas espécies para que a ferramenta seja cada vez mais precisa.

Os estudos com vertebrados não humanos que usaram a DEXA incluem espécies de mamíferos (Toll et al., 1994; Rose et al. , 1998; Elowsson et al. al., 1998; Lukaski et al., 1999; Nagy e Clair, 2000; Black et al. 2001; Kastl et al., 2002; Castaneda et al., 2006; Stevenson e van Tets, 2008; LeeHong et al., 2020) de peixes (Johnson et al., 2017; Lovett et al., 2019;), de anfíbios (Park et al., 2021a; Park et al., 2021b) de répteis ectotérmicos, tais como cágado (Stone et al., 2010), jabuti (Fledelius et al., 2005; Gramanzini et al., 2013), serpente (Secor e Nagy, 2003) , iguana (Zotti et al., 2004; Greer et al., 2006) e lagartixa (Sion et al., 2021), e de aves (Dirrigl, et al., 2004; Korine et al. 2004; Swennen et al.,

2004; Schreiweis et al., 2005; Gonçalves et al., 2018). Apenas alguns dos estudos prévios mensuraram a composição do corpo inteiro e estes demonstram que existem erros de precisão que podem ser definidos pelo coeficiente de variação intra-individual (CV) para dois ou mais escaneamentos. A Tabela 6 é uma adaptação da tabela publicada por Stone e Turner (2012), e apresenta valores de CV para várias espécies de vertebrados, comparando com os gerados no presente estudo,  $2,9 \pm 1,4\%$  para a CMO,  $3,1 \pm 1,8\%$  para MM e  $8,9 \pm 3,9\%$  para MG.

**Tabela 6.** Valores de coeficiente de variação intra-individual entre dois ou mais escaneamentos, para os componentes corporais fornecido pela DEXA, conteúdo mineral ósseo (CMO), massa magra (MM) e massa de gordura (MG), em diferentes espécies de vertebrados. Tabela adaptada de Stone e Turner (2012) com acréscimo dos dados do presente estudo.

Espécie	Coeficiente de Variação (%)			Fonte
	CMO	MM	MG	
bagre <i>Ictalurus punctatus</i> (Dorso-ventral)	2,45	1,06	33,70	Johnson et al., 2017
bagre <i>Ictalurus punctatus</i> (Lateral)	2,59	0,75	26,82	Johnson et al., 2017
salmão <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	7,67	0,24	0,67	Lovett et al., 2019
cágado <i>Trachemys scripta</i>	1,0	1,05	28,54	Stone et al., 2010
serpente <i>Nerodia rhombifer</i>	1,0	0,6	9,2	Secor e Nagy, 2003
<b>lagarto <i>Salvator merianae</i></b>	<b>2,9</b>	<b>3,1</b>	<b>8,9</b>	<b>Presente estudo</b>
passarídeos <i>Luscinia svecica</i> e <i>Calidris minuta</i>	NR	1,87	4,92	Korine et al., 2004
primata <i>Macaca mulatta</i>	1,2	2,3	10,3	Black et al., 2001
cão <i>Canis lupus familiaris</i>	1,4	0,51	1,55	Toll et al., 1994
rato Zucker	6,34	2,88	12,16	Rose et al., 1998
roedor <i>Clethrionomys rutilus</i>	2,3	1,6	6,8	Stevenson e van Tets, 2008
porco <i>Sus scrofa domestica</i>	1,12	0,72	2,37	Lukaski et al., 1999

NR = Não reportado

Portanto, a acurácia da DEXA para diferentes espécies merece atenção na análise e interpretação dos dados obtidos. No entanto, esses erros podem ser corrigidos por meio de equações de regressão que podem ser desenvolvidas em estudos de comparação com análises químicas (Stone et al., 2010). Nota-se, por exemplo, que a massa de gordura apresenta maior CV e em alguns estudos ocorrem superestimações desse valor (Brunton, et al. 1993; Mitchell, et al., 1997; Secor e Nagy, 2003; Korine, et al., 2004; Gonçalves et al., 2018; Sion, et al., 2021). Já em outros podem haver subestimação da gordura (Stone et al., 2010).

Esse cenário não é diferente para lagartos teiús. Mesmo com a superestimação da gordura, nossos dados de validação mostraram uma correlação forte entre os dados gerados pela DEXA e aqueles determinados em análise química (Fig. 2). Isso permitiu a criação de modelos de regressões lineares simples com alto poder preditivo e que corrigem erros de mensuração para massa de cinzas, proteína corporal, massa de gordura e água corporal total (Tabela 2). A maior confiança nos dados adquiridos pode ser suportada pela análise de correlação entre os valores preditos e os valores observados na análise química (Fig. 3) e pelo teste *t* pareado que não mostrou diferença entre os componentes corporais analisados. Assim, com o sucesso da validação da técnica de absorciometria de raios-x de dupla energia, foi possível realizar a avaliação longitudinal para rastrear variações sazonais na composição corporal de indivíduos da espécie aqui destacada (*Salvator merianae*). É uma espécie com padrão de variações sazonais morfofisiológicas, metabólicas, hormonais e comportamentais que já foram descritas anteriormente (Abe, 1995; Lopes e Abe, 1999; Andrade et al., 2004; Souza et al., 2004; Toledo et al., 2008; Silveira et al., 2013; Sanders et al., 2015; Nascimento et al., 2016; Tattersall et al., 2016; Zena et al., 2019 e Zena et al., 2020).

A massa de cinzas corresponde ao conteúdo mineral ósseo, que é formado principalmente por cálcio e fosfato (Casez et. al., 1994). Nos teiús, a proporção do conteúdo mineral ósseo em relação à massa corporal total não diferiu entre machos e fêmeas. Observou-se que, mesmo diante de variações evidentes de atividade motora e metabólica, principalmente entre hibernação e reprodução (Abe, 1995; Lopes e Abe, 1999; Andrade et al., 2004; Souza et al., 2004; Toledo et al., 2008; Silveira et al., 2013; Sanders et al., 2015; Nascimento

et al., 2016; Tattersall et al., 2016; Zena et al., 2019 e Zena et al., 2020), os machos de *S. merianae* não mostraram variação na proporção do conteúdo mineral ósseo ao longo do ano. Em contraste, as fêmeas, que também passaram pela hibernação sem alterar o conteúdo mineral ósseo, apresentaram queda deste durante a fase de reprodução. Isso pode estar relacionado ao recrutamento de cálcio para vitelogênese, uma vez que um aumento na concentração de cálcio no plasma está associado com a vitelogênese (Ho, 1987). De fato, há descrição de aumento nas concentrações de cálcio no plasma de fêmeas vitelogênicas de *S. merianae* durante a fase de reprodução até a oviposição (Sánchez-Loria et al., 2021), indicando recrutamento do cálcio possivelmente dos estoques ósseos. O mesmo foi observado em *Alligator mississippiensis* (Guillette et al., 1997), lagartos *Dipsosaurus dorsalis* (Gerstle e Callard, 1972) e fêmeas gravídicas de serpentes *Sistrurus catenatus* (Slater et al., 2017). O cálcio liga-se à vitelogenina durante a vitelogênese, portanto um aumento do cálcio plasmático é indicador do início da vitelogênese (Rostal et al., 1998). A vitelogenina é uma lipoglicofosfoproteína que é produzida no fígado dos vertebrados ovíparos, sendo que este órgão possui alto teor de fósforo e lipídios (Ho et al., 1982; Ho et al., 1991; Jones, 2011). A vitelogenina é considerada a principal proteína componente do vitelo, que aloca também cálcio, fósforo e colesterol (Gavaud, 1986; Bonnet et al., 1994). Esses componentes minerais também são incluídos na síntese da casca macia do ovo em *S. merianae* (Campos-Casal et al., 2020). Além disso, foi demonstrado que estradiol está ligado à indução da produção de vitelogenina em répteis (Hamann et al., 2002; Jones, 2011). Assim o aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol nas fêmeas de *Salvator merianae* observados durante a fase reprodutiva (Zena et al. 2020), pode ser relacionado à indução de síntese de vitelogenina e, portanto, início da vitelogênese, com concomitante recrutamento de cálcio ósseo. Esse aumento do estradiol durante a fase reprodutiva também foi observado e relacionado a vitelogenina no fígado em *Lacerta vivipara* (Gavaud, 1986) e *Vipera aspis* (Bonnet et al., 1994).

Como mencionado acima, um fato interessante a ser destacado é que ao final da fase de hibernação não foi observada variação significativa na massa de cinzas dos teiús, tanto machos quanto fêmeas. Durante a hibernação os teiús se

retiram para suas tocas (Abe, 1995; Lopes e Abe, 1999; Andrade et al., 2004; Sanders et al., 2015), reduzindo sua atividade locomotora (Zena et al., 2020), podendo ficar vários meses seguidos sem grandes movimentações, o que poderia levar a uma perda de conteúdo mineral ósseo. O desuso prolongado (inatividade física) pode resultar em aumento da porosidade óssea, diminuição da força e da densidade mineral, o que levaria facilmente a fraturas (Wojda et al., 2016) em algumas espécies. Em humanos, a inatividade física por um longo tempo pode levar a um quadro de osteoporose, por causa da redução do estresse mecânico sobre os ossos, principal estímulo para a sua formação e a inibição de sua reabsorção (Carvalho et al., 2001). No entanto, ausência de redução na densidade mineral óssea por desuso da hibernação, mas com variação em como suas propriedades são afetadas, foi demonstrada em vários mamíferos hibernantes, tais como *Perognathus longimembris* (Pineda et al., 2017); *Urocitellus parryi* (Wojda et al., 2016; Bogren et al., 2016); *Ictidomys tridemlineatus* (McGee-Lawrence et al., 2011); *Marmota flaviventris* (Wojda et al., 2012); *Marmota monax* (Doherty et al., 2012); *Ursus americanus* (Harvey e Donahue, 2004; Harvey et al., 2005; McGee-Lawrence et al., 2009a; McGee-Lawrence et al., 2009b) e *Ursos arctos horribilis* (McGee-Lawrence et al., 2009a).

O conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos que diferentes espécies de hibernadores utilizam para a preservação da densidade mineral óssea durante a fase de inatividade física ainda é escasso. No urso preto americano (*Ursus americanus*), não se observa diferença na concentração de cálcio plasmático entre a fase de hibernação e as demais fases do ano (McGee-Lawrence et al., 2015). Além disso, ocorre uma redução na renovação óssea durante a hibernação, o que contribui para a supressão metabólica que ocorre nessa fase (McGee-Lawrence et al., 2015). Essa ideia é sustentada por conta da redução durante a hibernação de marcadores séricos (BSALP e TRACP) de remodelação óssea (McGee-Lawrence et al., 2015). Portanto, esses fatos dão suporte à ideia de que durante a hibernação ocorre um equilíbrio na reabsorção e na formação óssea, o que resulta na preservação óssea (Donahue et al., 2006; Seger et al., 2011; McGee-Lawrence et al., 2015). Isso é corroborado por estudos histológicos que demonstram uma redução na porosidade e manutenção das propriedades geométricas e mecânicas do osso em ursos,

quando comparados um grupo logo após a hibernação e outro grupo ativos mantidos ativos por um tempo pós hibernação ou comparando amostras coletadas na pré-hibernação com amostras coletadas logo após a hibernação (Floyd et al., 1990; Pardy et al., 2004; McGee et al., 2008; McGee-Lawrence et al., 2009a). Além disso, o principal mediador de regulação do cálcio plasmático, o paratormônio (PTH), produzido nas paratireoides, pode atuar nos rins aumentando a reabsorção de cálcio e diminuindo a de fosfato. No *Ursus americanus*, o PTH parece agir durante a hibernação para facilitar a reciclagem de cálcio, uma vez que nessa fase as concentrações séricas de cálcio ionizado aumentam e o de fosfato diminui (Hellgren et al., 1993; Donahue et al., 2006). Além disso, outra explicação para a ausência de alterações está diretamente relacionada à redução da taxa metabólica durante essa fase e, conseqüentemente, à baixa demanda por cálcio ionizado (Pineda et al., 2017). De qualquer forma, independente do mecanismo envolvido na preservação da massa mineral óssea durante a hibernação, seu valor adaptativo parece evidente diante do cenário de atividade reprodutiva ocorrendo logo após a emergência da dormência de inverno, tanto em mamíferos (Hellgren, 1998; Seger et al., 2011) quanto nos teiús (presente estudo).

Em espécies de anfíbios e répteis que possuem uma longa fase de inatividade física, seja estivado ou hibernando, as investigações sobre perda óssea são escassas. Portanto, mais estudos são necessários em histologia, biologia celular, alterações endócrinas, análises de indicadores de metabolismo ósseo no soro sanguíneo (por exemplo, osteocalcina, calcitonina e leptina) e comparações entre espécies para melhor avaliar os mecanismos que possibilitam entender essa preservação óssea durante as fases de redução de atividade física (Wojda et al., 2012).

Em relação à variação da proteína corporal, soma da proteína bruta da massa seca e da água corporal total (Gonçalves, et al., 2018), observou-se nos teiús uma diferença significativa no perfil sazonal da composição relativa de proteína corporal (%MT) entre machos e fêmeas, durante quase todas as fases do ciclo anual analisado. Apenas na fase de reprodução (outubro) não houve diferença entre os sexos. Essa diferença já era esperada, pois em outras espécies, sabe-se que os machos apresentam maior proporção de proteína

corporal/massa magra do que as fêmeas, inclusive em humanos (He et al., 2018). Em relação à variação entre as fases do ciclo anual para proteína corporal, a principal diferença ocorreu durante a reprodução em ambos os sexos, com aumento da % relativa de proteína corporal. Uma possível explicação para isso é a presença de ovos com alto conteúdo proteico nas fêmeas (Campos-Casal et al., 2020), além da diminuição da gordura em ambos os sexos. Essa explicação faz sentido quando entendemos o princípio que a DEXA usa para calcular a massa magra (MM). A varredura realizada pelo equipamento gera uma imagem em 2D do corpo do animal, a qual é construída por vários pixels e cada pixel é criado com base em uma razão de atenuação dos fótons de duas energias diferentes. Essa razão de atenuação é conhecida como valor R e é calculada a partir da composição molecular do tecido, cada elemento químico possuindo um coeficiente de atenuação (Pietrobelli et al., 1996). Embora a DEXA apresente valores para três componentes (massa de gordura, conteúdo mineral ósseo e massa magra), em cada pixel é possível obter a proporção de apenas dois desses componentes. Assim, primeiro os pixels analisados são divididos em pixels contendo ossos e pixels contendo apenas tecido mole. A partir dos pixels contendo tecido mole, é feito um cálculo da proporção de tecido mole magro e gordura. A proporção desse tecido mole é extrapolada para o tecido mole que recobre o osso em pixels que contêm osso. Em humanos estima-se que 40% dos pixels do corpo contenham osso e a massa mole desses pixels é calculada indiretamente pela proporção de massa magra de tecido mole e tecido mole de gordura de pixels vizinhos que não contêm osso (Jebb, 1997; Laskey et al., 1996). Ainda em humanos, estima-se que em pixels com ossos, apenas 40% de sua massa é tecido ósseo e o restante é tecido mole ao redor do osso (Mazess et al., 1990). Portanto, devemos estar atentos às diferenças morfológicas que influenciam na determinação precisa da composição corporal a partir das leituras por DEXA (Pietrobelli et al., 1996).

Assim, podemos supor que o aumento da % de proteína corporal em relação à massa total não significa necessariamente um aumento da massa magra, mas sim um aumento da relação tecido mole magro/tecido mole de gordura. Isso pode ser observado nas figuras 5 e 6 onde vemos uma variação na quantidade de pixels de tecido mole magro e tecido mole de gordura, o que

provavelmente se deve ao alto recrutamento de energia que os animais fazem durante a fase de reprodução, conforme descrito para uma espécie filogeneticamente muito próxima, *Salvator rufescens* (Fitzgerald et al., 1993; anteriormente conhecida como *Tupinambis rufescens*). Em *S. rufescens*, as fêmeas alocam seus estoques de energia para o desenvolvimento dos ovos e construção do ninho, enquanto os machos alocam a gordura corporal para o desenvolvimento testicular e espermatogênese com aumento de atividade relacionada a comportamentos de dominância (Fitzgerald et al., 1993). Além disso, em *S. merianae*, tanto machos quanto fêmeas são observados terem maior atividade na fase de reprodução (Zena et al., 2020).

Outro ponto a ser discutido em relação às alterações de massa magra é sobre a hidratação dos animais. Espera-se que as proteínas corporais e a água sejam os principais componentes da massa corporal magra. Assim, a variação da água corporal total afeta diretamente a variação da proteína corporal. O grau de hidratação do indivíduo também interfere no cálculo de DEXA para tecidos moles (Pietrobelli et al., 1998). A DEXA está programada para assumir hidratação constante e conteúdo de eletrólitos de tecidos moles magros em humanos. Embora a hidratação do tecido livre de gordura possa variar entre 68,2% e 78,2%, sem afetar o percentual de gordura total, uma super-hidratação (acima dos 78%) levaria a uma subestimação da gordura e uma desidratação (abaixo dos 68%) levaria a uma superestimação da gordura (Pietrobelli et al., 1998). Em diferentes espécies de vertebrados, dentre peixes (Phillips et al., 1960; Woo e Murat, 1981; Moon, 1983; Simpkins e Hubert, 2003; Frick et al., 2008), anfíbios (Grably e Peiery, 1981; Merkle e Hanke 1988; Hervant et al., 2001), répteis ectotérmicos (McCue, 2007a, McCue, 2007b) e aves (Hiro-Omi, et al., 1992; Cherel et al., 1992), que foram submetidos a jejum prolongado, foi demonstrado aumento do conteúdo relativo de água corporal, por causa do recrutamento de outros componentes, principalmente lipídeos, para atender a demanda metabólica. A explicação para tal resposta fisiológica ainda não é bem definida, mas duas prováveis explicações podem ser encontradas na literatura (McCue, 2007b; McCue, 2010). A primeira defende que é uma resposta passiva ao aumento das concentrações de soluto resultante da mobilização de nutrientes endógenos. Já a segunda defende a ideia que a água é ativamente absorvida

pelos tecidos para minimizar a perda de volume celular resultante do catabolismo de substratos orgânicos. Nossos resultados revelaram um padrão de variação sazonal na % do conteúdo de água corporal total semelhante ao observado para a proteína corporal, com aumento durante a fase de reprodução (outubro), independente do sexo, fase onde também observamos um grande recrutamento de gordura. Portanto, tais aumentos de conteúdo de água corporal e da massa magra durante a reprodução pode ser devidos uma estratégia semelhante à utilizada por animais em estado de jejum quando ocorre o recrutamento de lipídios para a demanda metabólica. Esses fatos reforçam a importância de estudos de validação técnica para diferentes espécies e a criação de modelos matemáticos que possam corrigir erros de precisão.

Tanto quanto a falta de interferência na massa mineral óssea pela inatividade física de hibernação dos teiús, também não foi observada modificação na massa de proteínas. Sabe-se que a inatividade física por restrições na locomoção pode gerar um quadro de hipotrofia muscular por desuso em humanos e vários outros animais (Parker e Holm, 1990; Cherel et al., 1992; Piersma et al., 1999; Bauchinger e Biebach, 2005; Bodine, 2013; Cussonneau et al., 2021). Essa atrofia também já foi demonstrada em ratos Wistar submetidos a imobilização dos membros posteriores por 4 a 8 dias (Vazeille et al., 2008; Slimani, et al., 2015; Cui, et al., 2020). Entretanto, assim como para a manutenção da densidade mineral óssea, os mamíferos hibernantes também possuem mecanismos adaptativos que impedem a atrofia do músculo esquelético por desuso durante a hibernação (Harlow et al. 2001; Lohuis et al. 2007; Gao et al. 2012; Fedorov et al., 2014; Hindle et al., 2015; Miyazaki et al., 2019; Goropashnaya et al., 2020). No caso do esquilo terrestre (*Spermophilus lateralis*), foi proposta uma teoria da fisiologia poupadora de proteínas através da reciclagem do nitrogênio da uréia, que contribuiria para o aumento da síntese proteica a conservação das proteínas durante a hibernação (Nelson, 1978; Steffen, et al., 1980; Riedesel e Steffen, 1980) e conseqüentemente uma diminuição da necessidade de catabolismo muscular. Um estudo recente mostra também um mecanismo alternativo para reciclagem de nitrogênio a partir da microbiota intestinal em esquilos durante a hibernação (Regan, et al. 2022). Além disso, a redução metabólica, com diminuição da

demanda energética, do catabolismo proteico e da biossíntese proteica, é outra explicação, não excludente das anteriores, encontradas para a atenuação da atrofia muscular por desuso em mamíferos hibernantes, como esquilos terrestres e ursos (Fedorov et al., 2014; Miyazaki et al., 2019; Jansen et al., 2019; Mugahid et al., 2019; Goropashnaya et al., 2020). No caso do teiú, o retorno à atividade após a hibernação é caracterizado por comportamentos reprodutivos (Sanders et al., 2015; Zena et al., 2019; 2020), o que condiz com uma condição de ausência de hipotrofia tanto muscular quanto óssea. No entanto, o mecanismo de proteção contra a hipotrofia muscular em lagartos em hibernação ainda não é conhecido e necessita de mais estudos.

Os resultados observados para as medidas sazonais da massa de gordura revelam primeiramente que as fêmeas possuem maior composição relativa de gordura do que os machos. Isso é observado também em humanos e outras espécies de vertebrados (Young, 1997; Blaak, 2001; Lacy et al., 2002; Smith e Moore, 2003; Paz et al., 2019). A gordura é a principal fonte energética do organismo animal, sendo utilizada em fases de escassez ou privação de alimentos. No presente estudo, mostramos que há uma queda na massa de gordura relativa em ambos os sexos na fase de reprodução, recuperando-se rapidamente nas fases seguintes, de atividade no verão e de pré-hibernação. A variação sazonal na massa de gordura já foi descrita em diversas espécies de lagartos, como por exemplo *Klauberina riversiana* (LaPoint e Rodriguez, 1974), *Podarcis sicula* (Paolucci et al., 2001), *Urosaurus ornatus* (Lacy et al. 2002), *Liolaemus koslowskyi* (Paz et al., 2019), e *Uromastix hardwickii* (Afroz, et al. 1971). Neste último, a fase de reprodução é acompanhada por uma queda rápida para metade a um terço da massa original do tecido adiposo (Afroz, et al. 1971). Em fêmeas de *Salvator rufescens*, além de outras espécies de lagartos (Hahn e Tinkle, 1965; LaPointe e Rodriguez, 1974; Derickson, 1976; Paolucci et al., 2001; Lacy et al., 2002; Paz et al., 2019), observa-se uma alocação da energia armazenada nos corpos gordurosos para o desenvolvimento de oócitos (Fitzgerald et al., 1993). Nos machos de *S. rufescens*, o volume de gordura corporal está inversamente relacionado à massa testicular, indicando que podem recrutar lipídios dos corpos gordurosos para o desenvolvimento testicular e a espermatogênese (Fitzgerald et al., 1993). Além disso, os machos de teiús

parecem mais ativos do que as fêmeas durante a reprodução, incluindo competição por acasalamento (Fitzgerald, et al., 1991; Zena et al., 2020), o que pode indicar uma utilização dos corpos gordurosos também para suprir demandas energéticas dos comportamentos descritos nessa fase. No presente estudo, a variação do tamanho dos corpos gordurosos, avaliados por imagens de ultrassom, foi altamente correlacionada à variação da massa de gordura corporal em *Salvator merianae*, independente do sexo, indicando que estes corpos devem concentrar a maior parte da massa de gordura que é recrutada em momentos de demanda elevada.

A alta demanda energética de *S. merianae* durante a fase de reprodução pode ser atribuída não somente ao aumento da atividade locomotora, devido a comportamentos de forrageamento e reprodutivos (Sanders et al., 2015; Zena et al., 2020), mas também a uma condição de endotermia facultativa (Tattersall et al., 2016). Essa alocação energética durante a fase reprodutiva, pode ser regulada por hormônios tais como os tireoidianos, principalmente a triiodotironina (T<sub>3</sub>), que atua como um regulador direto da taxa metabólica de repouso (Afroz, et al. 1971; Wilsterman et al., 2015). De fato, fêmeas de *S. merianae*, têm um pico de T<sub>3</sub> durante a fase de reprodução (Zena et al., 2019), o que pode sinalizar um aumento da demanda energética para a vitelogênese e a construção de ninho durante a reprodução. Isso condiz com a queda na massa de gordura corporal observada no presente estudo, que deve ser por recrutamento dos corpos gordurosos. Adicionalmente, foi demonstrado que o aumento na concentração plasmática de triglicerídeos está associado à vitelogênese e esse aumento acentuado pode ser explicado pelas altas exigências de lipídios para a síntese de vitelo (Sánchez-Loria et al., 2021). Esse aumento plasmático de triglicerídeos na reprodução também foi descrita em outras espécies de répteis como *Caretta caretta* (Deem et al., 2009; Kawazu et al., 2013), e *Chelonia mydas* (Hamann et al., 2002), *Vipera aspis* (Bonnet et al., 1994) e *Sistrurus catenatus* (Slater et al., 2017), e *Cyclura cyclura inornata* (Webb, 2019). Além disso, o aumento da concentração plasmática de corticosterona ocorrendo na primavera e no verão em ambos os sexos de *S. merianae* (Zena et al., 2019) também pode ser relacionada à mobilização de estoques de gordura e modulação de comportamentos de territorialidade.

Tão interessante quanto o recrutamento das reservas energéticas na fase de reprodução é a manutenção dessas reservas durante a fase de hibernação, fase em que o animal não forrageia, assim impossibilitando a reposição de energia por meio da alimentação. Essa manutenção das reservas energéticas é possível devido à redução da taxa metabólica que essa espécie apresenta durante a hibernação (Abe, 1995; Souza et al., 2004; Toledo et al., 2008; Nascimento et al., 2016), além da inatividade física (Zena et al., 2020). Isso também pode ocorrer em outras espécies hibernadoras ou estivadoras (Buck e Barnes, 1999; Navas e Carvalho, 2010;).

## 8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

---

No presente estudo, foi possível determinar a composição corporal de machos e fêmeas de lagartos teiú *Salvator merianae* seguindo o mesmo indivíduo ao longo das estações do ano utilizando a DEXA como uma ferramenta adequada para esse fim. Foi possível a construção de modelos matemáticos com alto poder preditivo para componentes corporais por escaneamento por DEXA, comparados a análises químicas diretas, garantindo a validação da metodologia. Com isso, os dados longitudinais gerados para componentes da composição corporal mostraram-se em sintonia com outros padrões de variação sazonal para a espécie, em que ocorre uma demanda energética alta na fase reprodutiva, com recrutamento de gordura como principal fonte energética e que é seguida por fases de recuperação nos estoques de energia e, por fim, a manutenção desses estoques durante a fase de hibernação devido à redução da taxa metabólica. Além disso, foi possível verificar também a ausência de alteração da massa mineral óssea e da massa de proteína durante os meses de imobilidade da hibernação, o que deve garantir sustentação estrutural para os comportamentos reprodutivos que ocorrem logo após a emergência dessa fase hibernante.

Assim, incentivamos a realização de estudos longitudinais que avaliem padrões na variação da composição corporal que estejam relacionados às alterações morfofisiológicas e bioenergéticas, além do conhecimento sobre a ecologia e história de vida das diferentes espécies. O fato da DEXA ser uma técnica de fácil aplicação, baixa radiação e boa precisão, além de não destrutiva, reforça sua importância para o estudo de espécies raras, silvestres e até ameaçadas de extinção. Apesar de todas essas vantagens, um contraponto que deve ser levantado é o ainda elevado custo do equipamento, não sendo disponível, por enquanto, equipamentos menores ou portáteis, que facilitem o seu uso mais regular ou em campo, por exemplo. A partir de evidências de sua aplicação em diferentes contextos da fisiologia comparada e ecofisiologia, pode-se talvez fomentar o investimento nessas adequações para tal uso amplo em diversas espécies.

## 9. REFERÊNCIAS

---

**Abe, A. S.** (1995). Estivation in South-American Amphibians and Reptiles. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. **28**(11–12), 1241–1247. PMID: 8728854.

**Abrahão, C. R., Moreno, L. Z., Silva, J. C. R., Benites, N. R., Matajira, C. E. C., Ferreira, F., Moreno, A. M. and Dias, R. A.** (2020). Salmonella enterica in Invasive Lizard from Fernando de Noronha Archipelago: Serotyping, Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology. *Microorganisms*. **8**(12):2017. doi: 10.3390/microorganisms8122017.

**Afroz, H., Ishaq, M., Ali, S. S.** (1971). Seasonal changes in the lipids of adipose tissue in a hibernating lizard (*Uromatix hardwickii*). *Proc Soc Exp Biol Med*. **136**(3), 894-8. doi: 10.3181/00379727-136-35389.

**Andrade, D. V., Brito, S. P., Toledo, L. F. and Abe, A. S.** (2004). Seasonal changes in blood oxygen transport and acid-base status in the tegu lizard, *Tupinambis merianae*. *Respir Physiol Neurobiol*. **140**(2), 197-208. doi: 10.1016/j.resp.2004.01.007.

**Andreoli, A., Garaci, F., Cafarelli, F. P. and Guglielmi, G.** (2016). Body composition in clinical practice. *Eur J Radiol*. **85**(8) 1461-8. doi: 10.1016/j.ejrad.2016.02.005.

**AOAC: Official Methods of Analysis.** (2005) 18th ed. AOAC, Gaithersburg, 495 MD, USA.

**Bauchinger, U., Wohlmann, A. and Biebach, H.** (2005). Flexible remodeling of organ size during spring migration of the garden warbler (*Sylvia borin*). *Zoology (Jena)*. **108**(2), 97-106. doi: 10.1016/j.zool.2005.03.003.

**Bazzocchi, A., Filonzi, G., Ponti, F., Albisinni, U., Guglielmi, G. and Battista, G.** (2016). Ultrasound: Which role in body composition? *Eur J Radiol*. **85**(8), 1469-80. doi: 10.1016/j.ejrad.2016.04.005.

**Bennett, A. F. and Dawson, W. R.** (1976). Metabolism. In: Gans, C., Dawson, W.R. (Eds.), *Biology of the Reptilia. Physiology A*, vol. 5. Academic Press, London, pp. 127–224.

**Blaak E.** (2001). Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* **4**(6), 499-502. doi: 10.1097/00075197-200111000-00006.

**Black, A, Tilmont, E. M., Baer, D. J., Rumpler, W. V., Ingram, D. K., Roth, G. S. and Lane, M. A.** (2001). Accuracy and precision of dual-energy X-ray absorptiometry for body composition measurements in rhesus monkeys. *J Med Primatol.* **30**(2):94-9. doi: 10.1034/j.1600-0684.2001.300204.x.

**Bodine, S. C.** (2013). Hibernation: the search for treatments to prevent disuse-induced skeletal muscle atrophy. *Exp Neurol.* **248**, 129-35. doi: 10.1016/j.expneurol.2013.06.003.

**Bonnet, X., Naulleau, G. and Mauget, R.** (1994). The influence of body condition on 17-beta estradiol levels in relation to vitellogenesis in female *Vipera aspis* (Reptilia, Viperidae). *Gen Comp Endocrinol.* **93**(3), 424-37. doi: 10.1006/gcen.1994.1047.

**Borga, M., West, J., Bell, J. D., Harvey, N. C., Romu, T., Heymsfield, S. B. and Dahlqvist Leinhard, O.** (2018). Advanced body composition assessment: from body mass index to body composition profiling. *J Investig Med.* **66**(5), 1-9. doi: 10.1136/jim-2018-000722.

**Bogren, L. K., Johnston, E. L., Barati, Z., Martin, P. A., Wojda, S. J., Van Tets, I. G., LeBlanc, A. D., Donahue, S. W. and Drew, K. L.** (2016). The effects of hibernation and forced disuse (neurectomy) on bone properties in arctic ground squirrels. *Physiol Rep.* **4**(10):e12771. doi: 10.14814/phy2.12771.

**Brunton, J. A., Bayley, H. S. and Atkinson, S. A.** (1993). Validation and application of dual-energy x-ray absorptiometry to measure bone mass and body composition in small infants. *Am J Clin Nutr.* **58**(6), 839-45. doi: 10.1093/ajcn/58.6.839.

**Buck, C. L. and Barnes, B. M.** (1999). Annual Cycle of Body Composition and Hibernation in Free-Living Arctic Ground Squirrels. *Journal of Mammalogy.* **80**(2), 430-442. doi: 10.2307/1383291.

**Campos-Casal, F. H., Cortez, F. A., Gomez, E. and Chamut S. N.** (2020). Chemical composition and microstructure of recently oviposited eggshells of *Salvator merianae* (Squamata: Teiidae). *Herpetol Conserv Biol.* **15**, 25–40.

**Carvalho, D. C. L. de, Carvalho, M. M. de, Cliquet, A. Jr.** (2001). Disuse osteoporosis: its relationship to spine cord injured patient rehabilitation. *Acta ortop. Bras.* **9**(3). doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-78522001000300006>.

**Casez, J. P., Muehlbauer, R. C., Lippuner, K., Kelly, T., Fleisch, H. and Jaeger, P.** (1994). Dual-energy X-ray absorptiometry for measuring total bone mineral content in the rat: study of accuracy and precision. *Bone Miner.* **26**(1):61-8. doi: [10.1016/s0169-6009\(08\)80162-6](https://doi.org/10.1016/s0169-6009(08)80162-6).

**Castañeda, S., Largo, R., Calvo, E., Rodríguez-Salvanés, F., Marcos, M. E., Díaz-Curiel, M. and Herrero-Beaumont G.** (2006). Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol.* **35**(1):34-41. doi: [10.1007/s00256-005-0022-z](https://doi.org/10.1007/s00256-005-0022-z).

**Chamut, S., Jhan, G. A., Arce, O. E. A. and Manes, M. E.** (2012). Testosterone and reproductive activity in the male tegu lizard, *tupinambis merianae*. *Herpetological Conservation and Biology.* **7**(3), 299–305.

**Cherel, Y., Robin, J. P., Heitz, A., Calgari, C. and Le Maho, Y.** (1992). Relationships between lipid availability and protein utilization during prolonged fasting. *J Comp Physiol B.* **162**(4):305-13. doi: [10.1007/BF00260757](https://doi.org/10.1007/BF00260757).

**Cochran, W. J., Klish, W. J., Wong, W. W. and Klein, P. D.** (1986). Total body electrical conductivity used to determine body composition in infants. *Pediatr Res.* **20**(6), 561-4. doi: [10.1203/00006450-198606000-00018](https://doi.org/10.1203/00006450-198606000-00018).

**Cui, Q., Yang, H., Gu, Y., Zong, C., Chen, X., Lin, Y., Sun, H., Shen, Y. and Zhu, J.** (2020). RNA sequencing (RNA-seq) analysis of gene expression provides new insights into hindlimb unloading-induced skeletal muscle atrophy. *Ann Transl Med.* **8**(23), 1595. doi: [10.21037/atm-20-7400](https://doi.org/10.21037/atm-20-7400).

**Cussonneau, L., Boyer, C., Brun, C., Deval, C., Loizon, E., Meugnier, E., Gueret, E., Dubois, E., Taillandier, D., Polge, C., Béchet, D., Gauquelin-Koch, G., Evans, A. L., Arnemo, J. M., Swenson, J. E., Blanc, S., Simon, C., Lefai, E., Bertile, F. and Combaret, L.** (2021). Concurrent BMP Signaling

Maintenance and TGF- $\beta$  Signaling Inhibition Is a Hallmark of Natural Resistance to Muscle Atrophy in the Hibernating Bear. *Cells*. **10**(8), 1873. doi: 10.3390/cells10081873.

**da Silveira, L. C., do Nascimento, L. F., Colquhoun, A., Abe, A. S. and de Souza, S. C.** (2013). Cardiac hypertrophy and structural and metabolic remodeling related to seasonal dormancy in the first annual cycle in tegu lizards. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. **165**(3):371-80. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.04.006.

**dePersio, S., Allenderm M. C., Dreslik, M. J., Adamovicz, L., Phillips, C. A., Willeford, B., Kane, L., Joslyn, S. and O'Brien, R. T.** (2019) BODY CONDITION OF EASTERN BOX TURTLES (*TERRAPENE CAROLINA CAROLINA*) EVALUATED BY COMPUTED TOMOGRAPHY. *J Zoo Wildl Med*. **50**(2), 295-302. doi: 10.1638/2018-0201.

**de Souza, S. C., de Carvalho, J. E., Abe, A. S., Bicudo, J. E. and Bianconcini, M. S.** (2004). Seasonal metabolic depression, substrate utilisation and changes in scaling patterns during the first year cycle of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). *J Exp Biol*. **207**(Pt 2):307-18. doi: 10.1242/jeb.00756.

**Deem, S. L., Norton, T. M., Mitchell, M., Segars, A., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H., Dodd, M. and Karesh, W. B.** (2009). Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *J Wildl Dis*. **45**(1), 41-56. doi: 10.7589/0090-3558-45.1.41.

**Derickson, W. K.** (1976). Lipid Storage and Utilization in Reptiles. *American Zoologist*. **16**(4), 711–723. doi: <https://doi.org/10.1093/icb/16.4.711>

**Dietz, M. W., Dekinga, A., Piersma, T. and Verhulst, S.** (1999). Estimating organ size in small migrating shorebirds with ultrasonography: An intercalibration exercise. *Physiol Biochem Zool*. **72**(1), 28-37. doi: 10.1086/316648.

**Dirrigl, F. J., Dalsky, G. P. and Warner, S. E.** (2004). Dual-energy X-ray absorptiometry of birds: an examination of excised skeletal specimens. *J Vet*

Med A Physiol Pathol Clin Med. **51**(6), 313-9. doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00643.x.

**Do Nascimento, L. F., da Silveira, L. C., Nisembaum, L. G., Colquhoun, A., Abe, A. S., Mandarim-de-Lacerda, C. A. and de Souza, S. C.** (2016). Morphological and metabolic adjustments in the small intestine to energy demands of growth, storage, and fasting in the first annual cycle of a hibernating lizard (*Tupinambis merianae*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. **195**:55-64. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.02.002.

**Donahue, S. W., Galley, S. A., Vaughan, M. R., Patterson-Buckendahl, P., Demers, L. M., Vance, J. L. and McGee, M. E.** (2006). Parathyroid hormone may maintain bone formation in hibernating black bears (*Ursus americanus*) to prevent disuse osteoporosis. *J Exp Biol*. **209**(Pt 9), 1630-8. doi: 10.1242/jeb.02185.

**Doherty, A. H., Frampton, J. D. and Vinyard, C. J.** (2012). Hibernation does not reduce cortical bone density, area or second moments of inertia in woodchucks (*Marmota monax*). *Journal of Morphology*. **273**, 604-617. doi: <https://doi.org/10.1002/jmor.20007>.

**Doherty, A. H., Roteliuk, D. M., Gookin, S. E., McGrew, A. K., Broccardo, C. J., Condon, K. W., Prenni, J. E., Wojda, S. J., Florant, G. L. and Donahue, S. W.** (2016). Exploring the Bone Proteome to Help Explain Altered Bone Remodeling and Preservation of Bone Architecture and Strength in Hibernating Marmots. *Physiol Biochem Zool*. **89**(5):364-76. doi: 10.1086/687413.

**Elowsson, P., Forslund, A. H., Mallmin, H., Feuk, U., Hansson, I. and Carlsten, J.** (1998). An evaluation of dual-energy X-Ray absorptiometry and underwater weighing to estimate body composition by means of carcass analysis in piglets. *J Nutr*. **128**(9):1543-9. doi: 10.1093/jn/128.9.1543.

**Engeman, R. M., Kaiser, B. W. and Osorio, K. J.** (2019). Evaluating methods to detect and monitor populations of a large invasive lizard: the Argentine giant tegu. *Environ Sci Pollut Res Int*. **26**(31). 31717-31729. doi: 10.1007/s11356-019-06324-2.

**Faherty, S. L., Campbell, C. R., Hilbig, S. A. and Yoder, A. D.** (2017). The effect of body mass and diet composition on torpor patterns in a Malagasy primate (*Microcebus murinus*). *J Comp Physiol B.* **187**(4), 677-688. doi: 10.1007/s00360-016-1045-6.

**Falk, B. G., Snow, R. W. and Reed, R. N.** (2017). A validation of 11 body-condition indices in a giant snake species that exhibits positive allometry. *PLoS One.* **12**(7):e0180791. doi: 10.1371/journal.pone.0180791.

**Farmer, C. G.** (2016). Evolution: A lizard that generates heat. *Nature.* **529**(7587):470-2. doi: 10.1038/529470a.

**Fedorov, V. B., Goropashnaya, A. V., Stewart, N. C., Tøien, Ø., Chang, C., Wang, H., Yan, J., Showe, L. C., Showe, M. K. and Barnes, B. M.** (2014). Comparative functional genomics of adaptation to muscular disuse in hibernating mammals. *Mol Ecol.* **23**(22), 5524-37. doi: 10.1111/mec.12963.

**Fitzgerald, L. A., Chani, J. M. and Donadio, O. E.** (1991). *Tupinambis* lizards in Argentina: Implementing management of a traditionally exploited resource. In Robinson, J. and K. Redford, eds. "Neotropical Wildlife: Use and Conservation". University of Chicago Press, Chicago, USA. p. 303-316.

**Fitzgerald, L. A., Cruz, F. B. and Perotti, G.** (1993). The reproductive cycle and the size at maturity of *Tupinambis rufescens* (Sauria: Teiidae) in the Dry Chaco of Argentina. *Jornal of Herpetology.* **26**(1),70-78. doi: 10.2307/1564908.

**Fledelius, B., Jørgensen, G. W., Jensen, H. E. and Brimer, L.** (2005). Influence of the calcium content of the diet offered to leopard tortoises (*Geochelone pardalis*). *Vet Rec.* **156**(26):831-5. doi: 10.1136/vr.156.26.831.

**Floyd, T., Nelson, R. A. and Wynne, G. F.** (1990). Calcium and bone metabolic homeostasis in active and denning black bears (*Ursus americanus*). *Clin Orthop Relat Res.* **255**, 301-9. doi: 10.1097/00003086-199006000-00041.

**Frick, N. T., Bystriansky, J. S., Ip, Y. K., Chew, S. F. and Ballantyne, J. S.** (2008). Carbohydrate and amino acid metabolism in fasting and aestivating African lungfish (*Protopterus dolloi*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **151**(1), 85-92. doi: 10.1016/j.cbpa.2008.06.003.

**Gao, Y. F., Wang, J., Wang, H. P., Feng, B., Dang, K., Wang, Q. and Hinghofer-Szalkay, H. G.** (2012). Skeletal muscle is protected from disuse in hibernating dauria ground squirrels. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **161**(3), 296-300. doi: 10.1016/j.cbpa.2011.11.009

**Gavaud, J.** (1986). Vitellogenesis in the lizard *Lacerta vivipara* jacquin. II. Vitellogenin synthesis during the reproductive cycle and its control by ovarian steroids. *Gen Comp Endocrinol.* **63**(1), 11-23. doi: 10.1016/0016-6480(86)90176-0.

**Gerstle, J. F. and Callard, I. P.** (1972). Reproduction and estrogen-induced vitellogenesis in *Dipsosaurus dorsalis*. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol.* **42**(3), 791-801. doi: 10.1016/0300-9629(72)90456-2.

**Goetz, S. M., Steen, D. A., Miller, M. A., Guyer, C., Kottwitz, J., Roberts, J. F., Blankenship, E., Pearson, P. R., Warner, D. A. and Reed, R. N.** (2021) Argentine Black and White Tegu (*Salvator merianae*) can survive the winter under semi-natural conditions well beyond their current invasive range. *PLoS One.* **16**(3):e0245877. doi: 10.1371/journal.pone.0245877.

**Gonçalves, C. A., Sakomura, N. K., da Silva, E. P., Artoni, S. M. B., Suzuki, R. M. and Gous, R. M.** (2018). Dual energy X-ray absorptiometry is a valid tool for assessing *in vivo* body composition of broilers. *Animal Production Science.* **59**(5), 993-1000. doi: <https://doi.org/10.1071/AN17637>.

**Goropashnaya, A. V., Barnes, B. M., Fedorov, V. B.** (2020). Transcriptional changes in muscle of hibernating arctic ground squirrels (*Urocitellus parryii*): implications for attenuation of disuse muscle atrophy. *Sci Rep.* **10**(1), 9010. doi: 10.1038/s41598-020-66030-9.

**Grably, S. and Peiery, Y.** (1981). Weight and tissue changes in long term starved frogs *Rana esculenta*. *Comp. Biochem. Physiol.* **69**, 683–688. Doi: [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(81\)90156-0](https://doi.org/10.1016/0300-9629(81)90156-0)

**Gramanzini, M., Di Girolamo, N., Gargiulo, S., Greco, A., Cocchia, N., Delogu, M., Rosapane, I., Liuzzi, R., Selleri, P. and Brunetti, A.** (2013). Assessment of dual-energy x-ray absorptiometry for use in evaluating the effects

of dietary and environmental management on Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Am J Vet Res.* **74**(6):918-24. doi: 10.2460/ajvr.74.6.918.

**Gregory, P. T.** (1982). Reptilian hibernation. In: Gans, C., Pough, F.H. (Eds.), *Biology of the Reptilia. Physiology D. Physiological Ecology*, vol. 13. Academic Press, London, pp. 53–154.

**Greer, L. L., Daniel, G. B., Bartges, J. W. and Ramsay, E. C.** (2006). Evaluation of Bone Mineral Density in the Healthy Green Iguana, *Iguana iguana*: Correlation of Dual Energy X-ray Absorptiometry and Radiology. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery.* **16** (1), 4–8. doi: <https://doi.org/10.5818/1529-9651.16.1.4>

**Guillette, L. J. Jr., Woodward, A. R., Crain, D. A., Masson, G. R., Palmer, B. D., Cox, M. C., You-Xiang, Q. and Orlando, E. F.** (1997). The reproductive cycle of the female American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Gen Comp Endocrinol.* **108**(1), 87-101. doi: 10.1006/gcen.1997.6953.

**Guinet, C., Roux, J. P., Bonnet, M. and Mison, V.** (1998). Effect of body size, body mass, and body condition on reproduction of female South African fur seals (*Arctocephalus pusillus*) in Namibia. *Canadian Journal of Zoology.* **76**(8), 1418-1424. doi:10.1139/cjz-76-8-1418.

**Hahn, W. E. and Tinkle D. W.** (1965). Fat body cycling and experimental evidence for its adaptive significance to ovarian follicle development in the lizard *uta stansburiana*. *J Exp Zool.* **158**, 79-85. doi: 10.1002/jez.1401580108.

**Hamann, M., Limpus, C. J. and Whittier, J. M.** (2002). Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). *J Comp Physiol B.* **172**(6), 485-93. doi: 10.1007/s00360-002-0271-2.

**Harlow, H. J., Lohuis, T., Beck, T. D. and Iazzo, P. A.** (2001). Muscle strength in overwintering bears. *Nature.* **409**(6823), 997. doi: 10.1038/35059165.

**Harvey, K. B. and Donahue, S. W.** (2004). Bending properties, porosity, and ash fraction of black bear (*Ursus americanus*) cortical bone are not compromised with aging despite annual periods of disuse. *J Biomech.* **37**(10), 1513-20. doi: 10.1016/j.jbiomech.2004.01.010.

**Harvey, K. B., Drummer, T. D, and Donahue, S. W.** (2005). The tensile strength of black bear (*Ursus americanus*) cortical bone is not compromised with aging despite annual periods of hibernation. *J Biomech.* **38**(11), 2143-50. doi: 10.1016/j.jbiomech.2005.06.007.

**Hayes, J. P. and Shonkwiler, J. S.** (2001). Morphometric indicators of body condition: worthwhile or wishful thinking? In: Speakman, J.R. (Ed.), *Body Composition Analysis of Animals: A Handbook of Non-Destructive Methods.* Cambridge University Press, Cambridge, pp. 8–38.

**He, X., Li, Z., Tang, X., Zhang, L., Wang, L., He, Y., Jin, T. and Yuan, D.** (2018). Age- and sex-related differences in body composition in healthy subjects aged 18 to 82 years. *Medicine (Baltimore).* **97**(25):e11152. doi: 10.1097/MD.00000000000011152.

**Hellgren, E. C., Rogers, L. L. and Seal, U. S.** (1993). Serum chemistry and hematology of black bears – physiological indices of habitat quality or seasonal patterns. *J. Mammal.* **74**, 304-315. doi: <https://doi.org/10.2307/1382385>.

**Hellgren, E. C.** (1998). Physiology of Hibernation in Bears. *Ursus.* **10**, 467–477. doi: <http://www.jstor.org/stable/3873159>.

**Henen, B. T.** (1991). Measuring the lipid content of live animals using cyclopropane gas. *Am J Physiol.* **261**(3 Pt 2):R752-9. doi: 10.1152/ajpregu.1991.261.3.R752.

**Hervant, F., Mathieu, J. and Durand, J.** (2001). Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander. *J Exp Biol.* **204**(Pt 2), 269-81. Doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.204.2.269>.

**Hindle, A. G., Otis, J. P., Epperson, L. E., Hornberger, T. A., Goodman, C. A., Carey, H. V. and Martin, S. L.** (2015). Prioritization of skeletal muscle growth for emergence from hibernation. *J Exp Biol.* **218**(Pt 2):276-84. doi: 10.1242/jeb.109512.

**Hiro-Omi, Y., Hisae, M. and Mitsuhiro, F.** (1992). Changes in body composition of germ-free and conventional chickens during starvation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **103**(3), 565–568. doi:10.1016/0300-9629(92)90290-7.

**Ho, S.-m., Kleis, S., McPherson, R., Heisermann, G. J., and Callard, I. P.** (1982), Regulation of Vitellogenesis in Reptiles. *Herpetologica*. **38**(1), 40–50. doi: <http://www.jstor.org/stable/3892360>.

**Ho, S.-m.** (1987). Endocrinology of vitellogenesis. p. 145-169. In D. Norris and R. Jones (Eds.) *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians, and Reptiles*. Plenum Press, New York.

**Ho, S.-m.** (1991). Vitellogenesis. In P. Pang, & M. Schreibman (Eds.), “Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biochemical Implications” Vol. 4. part A (pp. 91–126). New York: Academic Press.

**Jansen, H. T., Trojahn, S., Saxton, M. W., Quackenbush, C. R., Evans Hutzenbiler, B. D., Nelson, O. L., Cornejo, O. E., Robbins, C. T. and Kelley, J. L.** (2019). Hibernation induces widespread transcriptional remodeling in metabolic tissues of the grizzly bear. *Commun Biol*. **2**, 336. doi: 10.1038/s42003-019-0574-4.

**Jarnevich, C. S., Hayes, M. A., Fitzgerald, L. A., Yackel Adams, A. A., Falk, B. G., Collier, M. A. M., Bonewell, L. R., Klug, P. E., Naretto, S. and Reed, R. N.** (2018). Modeling the distributions of tegu lizards in native and potential invasive ranges. *Sci Rep*. **8**(1):10193. doi: 10.1038/s41598-018-28468-w.

**Jebb, S. A.** (1997). Measurement of soft tissue composition by dual energy X-ray absorptiometry. *Br J Nutr*. **77**(2):151-63. doi: 10.1079/bjn19970021.

**Johnson, M. S., Watts, R. J., Hammer, H. S., Nagy, T. R. and A Watts, S.** (2017). Validation of Dual-energy X-Ray Absorptiometry to Predict Body Composition of Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. *J World Aquac Soc*. **48**(1), 122-131. doi: 10.1111/jwas.12324.

**Jones, S. M.** (2011) Hormonal regulation of ovarian function in reptiles. In "Hormones and Reproduction of Vertebrates, Vol 3" Ed by DO Norris, KH Lopez, Academic Press, Boulder, pp 89–115

**Kalender, W. A.** (2006). X-ray computed tomography. *Phys Med Biol.* **51**(13):R29-43. doi: 10.1088/0031-9155/51/13/R03.

**Kastl, S., Sommer, T., Klein, P., Hohenberger, W. and Engelke, K.** (2002). Accuracy and precision of bone mineral density and bone mineral content in excised rat humeri using fan beam dual-energy X-ray absorptiometry. *Bone.* **30**(1):243-6. doi: 10.1016/s8756-3282(01)00641-x.

**Kawazu, I., Maeda, K., Kino, M. and Oka, S.** (2013). Structure of the loggerhead turtle assemblage in Okinawan waters estimated from variation in body size and blood profile. *Curr Herpetol* **32**: 190–196. doi: <https://doi.org/10.5358/hsj.32.190>.

**Kelly, T. L., Berger, N. and Richardson, T. L.** (1998). DXA body composition: theory and practice. *Appl Radiat Isot.* **49**(5-6):511-3. doi: 10.1016/s0969-8043(97)00226-1.

**Klug, P. E., Reed, R. N., Mazzotti, F. J., McEachern, M. A., Vinci, J. J., Craven, K. K. and Yackel Adams, A. A.** (2015). The influence of disturbed hábitat on the spatial ecology of Argentine black and White tegu (*Tupinambis meriana*), a recent invader in the Everglades ecosystem (Florida, USA). *Biological Invasions.* **17**(6): 1785-1797. doi: 10.1007/s10530-014-0834-7.

**Korine, C., Daniel, S., van Tets, I. G., Yosef, R. and Pinshow, B.** (2004). Measuring fat mass in small birds by dual-energy x-ray absorptiometry. *Physiol Biochem Zool.* **77**(3):522-9. doi: 10.1086/383507.

**Kuriyan, R.** (2018). Body composition techniques. *J Med Res.* **148**(5), 648-658. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_1777\_18.

**Laskey, M. A.** (1996). Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition.* **12**(1):45-51. doi: 10.1016/0899-9007(95)00017-8.

**LeeHong, P. A., Li, X., Bryden, W. L. and Ward L. C.** (2020) Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and chemical composition as measures of

body composition of the short-beaked echidna (*Tachyglossus aculeatus aculeatus*). Australian Journal of Zoology. **67**, 73-81. doi: <https://doi.org/10.1071/ZO19034>

**Lennox, A. R. and Goodship, A. E.** (2008). Polar bears (*Ursus maritimus*), the most evolutionary advanced hibernators, avoid significant bone loss during hibernation. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. **149**(2), 203-8. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.11.012.

**Lesser, G. T., Perl, W. and Steele, J. M.** (1960). Determination of total body fat by absorption of an inert gas; measurements and results in normal human subjects. J Clin Invest. **39**(12), 1791-806. doi: 10.1172/JCI104203.

**Lind, C. M. and Beaupre, S. J.** (2015). Male Snakes Allocate Time and Energy according to Individual Energetic Status: Body Condition, Steroid Hormones, and Reproductive Behavior in Timber Rattlesnakes, *Crotalus horridus*. Physiol Biochem Zool. **88**(6), 624-33. doi: 10.1086/683058.

**Lohuis, T. D., Harlow, H. J. and Beck, T. D.** (2007). Hibernating black bears (*Ursus americanus*) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. **147**(1), 20-8. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.12.020.

**Lopes, H. R. and Abe, A. S.** (1999). Biología reproductiva e comportamento do teiú *Tupinambis merianae* em cativeiro (Reptilia, Teiidae). In: T. G. Fang, O.L. Montenegro & R.E. Bodmer (Eds.) Manejo y conservación de Fauna Silvestre em America Latina, p. 259-274.

**Lovett, B. A., Firth, E. C., Plank, L. D., Symonds, J. E., Preece, M. A. and Herbert, N. A.** (2019). Investigating a relationship between body composition and spinal curvature in farmed adult New Zealand king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): A novel application of dual-energy X-ray absorptiometry. Aquaculture. **502**, 48-55. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.017>.

**Lukaski, H. C., Marchello, M. J., Hall, C. B., Schafer, D. M. and Siders, W. A.** (1999). Soft tissue composition of pigs measured with dual x-ray

absorptiometry: comparison with chemical analyses and effects of carcass thicknesses. *Nutrition*. **15**(9):697-703. doi: 10.1016/s0899-9007(99)00154-9.

**Mazess, R. B., Barden, H. S., Bisek, J. P. and Hanson, J.** (1990). Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr*. **51**(6):1106-12. doi: 10.1093/ajcn/51.6.1106.

**McCue, M. D.** (2007a). Snakes survive starvation by employing supply- and demand-side economic strategies. *Zoology (Jena)*. **110**(4), 318-27. doi: 10.1016/j.zool.2007.02.004.

**McCue, M. D.** (2007b). Western diamondback rattlesnakes demonstrate physiological and biochemical strategies for tolerating prolonged starvation. *Physiol Biochem Zool*. **80**(1), 25-34. doi: 10.1086/509057.

**McCue, M. D.** (2008). Fatty acid analyses may provide insight into the progression of starvation among squamate reptiles. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. **151**(2), 239-46. doi: 10.1016/j.cbpa.2008.06.034.

**McGee, M. E., Maki, A. J., Johnson, S. E., Nelson, O. L., Robbins, C. T. and Donahue, S. W.** (2008). Decreased bone turnover with balanced resorption and formation prevent cortical bone loss during disuse (hibernation) in grizzly bears (*Ursus arctos horribilis*). *Bone*. **42**(2), 396-404. doi: 10.1016/j.bone.2007.10.010.

**McGee-Lawrence, M. E., Wojda, S. J., Barlow, L. N., Drummer, T. D., Castillo, A. B., Kennedy, O., Condon, K. W., Auger, J., Black, H. L., Nelson, O. L., Robbins, C. T. and Donahue, S. W.** (2009a). Grizzly bears (*Ursus arctos horribilis*) and black bears (*Ursus americanus*) prevent trabecular bone loss during disuse (hibernation). *Bone*. **45**(6), 1186-91. doi: 10.1016/j.bone.2009.08.011.

**McGee-Lawrence, M. E., Wojda, S. J., Barlow, L. N., Drummer, T. D., Bunnell, K., Auger, J., Black, H. L. and Donahue, S. W.** (2009b) Six months of disuse during hibernation does not increase intracortical porosity or decrease cortical bone geometry, strength, or mineralization in black bear (*Ursus americanus*) femurs. *J Biomech*. **42**(10), 1378-1383. doi: 10.1016/j.jbiomech.2008.11.039.

**McGee-Lawrence, M. E., Stoll, D. M., Mantila, E. R., Fahrner, B. K., Carey, H. V. and Donahue, S. W.** (2011). Thirteen-lined ground squirrels (*Ictidomys tridecemlineatus*) show microstructural bone loss during hibernation but preserve bone macrostructural geometry and strength. *J Exp Biol.* **214**(Pt 8), 1240-7. doi: 10.1242/jeb053520.

**McGee-Lawrence, M., Buckendahl, P., Carpenter, C., Henriksen, K., Vaughan, M. and Donahue, S.** (2015). Suppressed bone remodeling in black bears conserves energy and bone mass during hibernation. *J Exp Biol.* **218**(Pt 13), 2067-74. doi: 10.1242/jeb.120725.

**McWilliams, S. R. and Whitman, M.** (2013). Non-destructive techniques to assess body composition of birds: a review and validation study. *Journal of Ornithology.* **154**(3), 597-618. doi: 10.1007/s10336-013-0946-3.

**Merkle, S. and Hanke, W.** (1988). Long-term starvation in *Xenopus laevis* Daudin--II. Effects on several organs. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol.* **90**(3), 491-5. doi: 10.1016/0300-9629(88)90225-3.

**Milisits, G., Donkó, T., Dalle Zotte, A., Sartori, A., Szentirmai, E., Emri, M., Opposits, G., Orbán, A., Pócze, O., Repa, I. and Sütő, Z.** (2013). Application of computed tomography to assess the effect of egg yolk ratio on body composition in chickens of different genotype and gender at hatch and during the rearing period. *Br Poult Sci.* **54**(5), 611-9. doi: 10.1080/00071668.2013.811714.

**Mitchell, A. D., Rosebrough, R. W. and Conway, J. M.** (1997). Body composition analysis of chickens by dual energy x-ray absorptiometry. *Poult Sci.* **76**(12):1746-52. doi: 10.1093/ps/76.12.1746.

**Mitchell, A. D., Rosebrough, R. W., Taicher, G. Z. and Kovner, I.** (2011). In vivo measurement of body composition of chickens using quantitative magnetic resonance. *Poult Sci.* **90**(8), 1712-9. doi: 10.3382/ps.2010-01156.

**Miyazaki, M., Shimozuru, M. and Tsubota, T.** (2019). Skeletal muscles of hibernating black bears show minimal atrophy and phenotype shifting despite prolonged physical inactivity and starvation. *PLoS One.* **14**(4):e0215489. doi: 10.1371/journal.pone.0215489.

**Moon, T. W.** (1983). Metabolic reserves and enzyme activities with food deprivation in immature Am eels, *Anguilla rostrata* (LeSuer). *Can. J. Zool.* **61**, 802–811. Doi: <https://doi.org/10.1139/z83-106>.

**Mugahid, D. A., Sengul, T. G., You, X., Wang, Y., Steil, L., Bergmann, N., Radke, M. H., Ofenbauer, A., Gesell-Salazar, M., Balogh, A., Kempa, S., Tursun, B., Robbins, C. T., Völker, U., Chen, W., Nelson, L. and Gotthardt, M.** (2019). Proteomic and Transcriptomic Changes in Hibernating Grizzly Bears Reveal Metabolic and Signaling Pathways that Protect against Muscle Atrophy. *Sci Rep.* **9**(1), 19976. doi: 10.1038/s41598-019-56007-8. Erratum in: *Sci Rep.* 2020 Mar 4;10(1):4381.

**Mundi, M. S., Patel, J. J. and Martindale, R.** (2019). Body Composition Technology: Implications for the ICU. *Nutr Clin Pract.* **34**(1), 48-58. doi: 10.1002/ncp.10230.

**Nagy, T. R. and Clair, A. L.** (2000). Precision and accuracy of dual-energy X-ray absorptiometry for determining in vivo body composition of mice. *Obes Res.* **8**(5):392-8. doi: 10.1038/oby.2000.47.

**Nagy, T. R.** (2001). The use of dual-energy X-ray absorptiometry for the measurement of body composition. In: Speakman, J.R. (Ed.), *Body Composition Analysis of Animals: A Handbook of Non-Destructive Methods*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 211–229.

**Nagy, I., Ibáñez, N., Romvári, R., Mekkwaw, W., Metzger, S., Horn, P. and Szendrő, Z.** (2006). Genetic parameters of growth and in vivo computerized tomography based carcass traits in Pannon White rabbits. *Livestock Science*, **104**(1-2), 46–52. doi:10.1016/j.livsci.2006.03.009.

**Navas, C. A. and Carvalho, J. E.** (2010). (Ed.). *Aestivation: Molecular and Physiological Aspects*. Springer-Verlag, Berlin. 267. doi: 10.1007/978-3-642-02421-4

**Nelson, R. A.** (1978). Urea metabolism in the hibernating black bear. *Kidney Int Suppl.* **8**:S177-9.

**Newman, E. M., Allender, M. C., Thompson, D., Glowacki, G. A., Ivančić, M., Adkesson, M. J. and Lindemann, D. M.** (2019). MEASURING FAT

CONTENT USING COMPUTED TOMOGRAPHY TO ESTABLISH A BODY CONDITION INDEX IN FREE-RANGING BLANDING'S TURTLES (*EMYDOIDEA BLANDINGII*) IN ILLINOIS. *J Zoo Wildl Med.* **50**(3), 594-603. doi: 10.1638/2018-0154.

**O'Connor, T. P.** (1995). Metabolic characteristics and body composition in house finches: effects of seasonal acclimatization. *J Comp Physiol B.* **165**: 298-305.

**Palacios, M. G., Cunnick, J. E. and Bronikowski, A. M.** (2013). Complex interplay of body condition, life history, and prevailing environment shapes immune defenses of garter snakes in the wild. *Physiol Biochem Zool.* **86**(5), 547-58. doi: 10.1086/672371.

**Pardy, C. K., Wohl, G. R., Ukrainetz, P. J., Sawers, A., Boyd, S. K. and Zernicke, R. F.** (2004). Maintenance of bone mass and architecture in denning black bears (*Ursus americanus*). *J. Zool.* **263**, 359-364. doi: <https://doi.org/10.1017/S0952836904005412>.

**Park, J-K., Kim, J. B. and Do, Y.** (2021a). Examination of Physiological and Morphological Differences between Farm-Bred and Wild Black-Spotted Pond Frogs (*Pelophylax nigromaculatus*). *Life.* **11**(10), 1089. doi: <https://doi.org/10.3390/life11101089>.

**Park, J-K., Kim, J. B. and Do, Y.** (2021b). Reference Intervals in Combined Veterinary Clinical Examinations of Male Black-Spotted Pond Frogs (*Pelophylax nigromaculatus*). *Animals.* **11**, 1407. doi: <https://doi.org/10.3390/ani11051407>.

**Parker, H. and Holm, H.** (1990). Patterns of nutrient and energy expenditure in female common eiders nesting in the high arctic. *Auk.* **107**, 660–668. doi: <https://doi.org/10.2307/4087996>.

**Peppler, W. W. and Mazess, R. B.** (1981). Total body bone mineral and lean body mass by dual-photon absorptiometry. I. Theory and measurement procedure. *Calcif Tissue Int.* **33**(4):353-9. doi: 10.1007/BF02409455.

**Phillips, A. M., Livingston, D. L., Dumas, R. F.** (1960). Effect of starvation and feeding on the chemical composition of brook trout. *Progr. Fish-Cult.* **22**, 147–154. doi: [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1960\)22\[147:EOSAFO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1960)22[147:EOSAFO]2.0.CO;2).

**Piersma, T., Gudmundsson, G. A. and Lilliendahl, K.** (1999). Rapid changes in the size of different functional organ and muscle groups during refueling in a long-distance migrating shorebird. *Physiol Biochem Zool.* **72**(4), 405-15. doi: 10.1086/316680.

**Pietrobelli, A., Formica, C., Wang, Z. and Heymsfield, S. B.** (1996). Dual-energy X-ray absorptiometry body composition model: review of physical concepts. *Am J Physiol.* **271**(6 Pt 1):E941-51. doi: 10.1152/ajpendo.1996.271.6.E941.

**Pietrobelli, A., Wang, Z., Formica, C. and Heymsfield, S. B.** (1998). Dual-energy X-ray absorptiometry: fat estimation errors due to variation in soft tissue hydration. *Am J Physiol.* **274**(5):E808-16. doi: 10.1152/ajpendo.1998.274.5.E808.

**Pineda, N., Owen, M., Tucker, C., Wojda, S., Kitchen, S., Black, H. and Donahue, S.** (2017). Hibernating Little Pocket Mice Show Few Seasonal Changes in Bone Properties. *Anat Rec (Hoboken).* **300**(12), 2175-2183. doi: 10.1002/ar.23676.

**Regan, M. D., Chiang, E., Liu, Y., Tonelli, M., Verdoorn, K. M., Gugel, S. R., Suen, G., Carey, H. V. and Assadi-Porter, F. M.** (2022). Nitrogen recycling via gut symbionts increases in ground squirrels over the hibernation season. *Science.* **375**(6579), 460-463. doi: 10.1126/science.abh2950.

**Riedesel, M. L. and Steffen, J. M.** (1980). Protein metabolism and urea recycling in rodent hibernators. *Fed Proc.* **39**(12), 2959-63.

**Rose, B. S., Flatt, W. P., Martin, R. J. and Lewis, R. D.** (1998). Whole body composition of rats determined by dual energy X-ray absorptiometry is correlated with chemical analysis. *J Nutr.* **128**(2):246-50. doi: 10.1093/jn/128.2.246.

**Rostal, D. C., Robeck, T. R., Grumbles, J. S., Burchfield, P. M. and Owens, D. W.** (1998). Seasonal reproductive cycle of the Galápagos tortoise (*Geochelone nigra*) in captivity. *Zoo Biology*, **17**(6), 505–517. doi:10.1002/(sici)1098-2361(1998)17:6<505::aid-zoo4>3.0.co;2-3

**Sánchez-Loria, O., Gomez, E., Arce, O. and Chamut, S.** (2021). Metabolic and Hormonal Changes Associated with Vitellogenesis in *Salvator merianae* Lizards. *Zoolog Sci.* **38**(5), 459-465. doi: 10.2108/zs210013.

**Sanders, C. E., Tattersall, G. J., Reichert, M., Andrade, D. V., Abe, A. S. and Milsom, W. K.** (2015). Daily and annual cycles in thermoregulatory behaviour and cardio-respiratory physiology of black and white tegu lizards. *J Comp Physiol B.* **185**(8):905-15. doi: 10.1007/s00360-015-0928-2.

**Scholz, A. M., Bünger, L., Kongsro, J., Baulain, U. and Mitchell, A. D.** (2015). Non-invasive methods for the determination of body and carcass composition in livestock: dual-energy X-ray absorptiometry, computed tomography, magnetic resonance imaging and ultrasound: invited review. *Animal.* **9**(7), 1250-64. doi: 10.1017/S1751731115000336.

**Schreiweis, M. A., Orban, J. I., Ledur, M. C., Moody, D. E. and Hester, P. Y.** (2005). Validation of dual-energy X-ray absorptiometry in live White Leghorns. *Poult Sci.* **84**(1), 91-9. doi: 10.1093/ps/84.1.91.

**Secor, S. M. and Nagy, T. R.** (2003). Non-invasive measure of body composition of snakes using dual-energy X-ray absorptiometry. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **136**(2), 379-89. doi: 10.1016/s1095-6433(03)00176-4.

**Seger, R. L., Cross, R. A., Rosen, C. J., Causey, R. C., Gundberg, C. M., Carpenter, T. O., Chen, T. C., Halteman, W. A., Holick, M. F., Jakubas, W. J., Keisler, D. H., Seger, R. M. and Servello, F. A.** (2011). Investigating the mechanism for maintaining eucalcemia despite immobility and anuria in the hibernating American black bear (*Ursus americanus*). *Bone.* **49**(6), 1205-12. doi: 10.1016/j.bone.2011.08.017.

**Shevroja, E., Cafarelli, F. P., Guglielmi, G. and Hans, D.** (2021) DXA parameters, Trabecular Bone Score (TBS) and Bone Mineral Density (BMD), in

fracture risk prediction in endocrine-mediated secondary osteoporosis. *Endocrine*. **74**(1):20-28. doi: 10.1007/s12020-021-02806-x.

**Simmen, B., Bayart, F., Rasamimanana, H., Zahariev, A., Blanc, S. and Pasquet, P.** (2010). Total energy expenditure and body composition in two free-living sympatric lemurs. *PLoS One*. **5**(3):e9860. doi: 10.1371/journal.pone.0009860.

**Simpkins, D. G. and Hubert, W. A.** (2003). Physiological responses of juvenile rainbow trout to fasting and swimming activity: effects on body composition and condition indices. *Trans. Am. Fish. Soc.* **132**, 576–589. Doi: 10.1577/1548-8659(2003)132<0576:PROJRT>2.0.CO;2

**Sion, G., Watson, M. J. and Bouskila, A.** (2021) Measuring body condition of lizards: a comparison between non-invasive dual-energy X-ray absorptiometry, chemical fat extraction and calculated indices. *Front Zool.* **18**(1):1. doi: 10.1186/s12983-020-00382-w.

**Slater, O. M., Faust, L. J., Hileman, E. T. and Lavin, S. R.** (2017). Plasma vitamin, mineral, and biochemistry concentrations in free-ranging, adult eastern massasauga (*Sistrurus catenatus*) during spring egress. *J Herpetol Med Surg* **27**, 29–35. doi: 10.5818/1529-9651-27.1-2.29.

**Slimani, L., Vazeille, E., Deval, C., Meunier, B., Polge, C., Dardevet, D., Béchet, D., Taillandier, D., Micol, D., Listrat, A., Attaix, D. and Combaret, L.** (2015). The delayed recovery of the remobilized rat tibialis anterior muscle reflects a defect in proliferative and terminal differentiation that impairs early regenerative processes. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. **6**(1), 73-83. doi: 10.1002/jcsm.12011.

**Smith, R. J. and Moore, F. R.** (2003). Arrival fat and reproductive performance in a long-distance passerine migrant. *Oecologia*. **134**, 325–331 <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1152-9>

**Speakman, J. R.** (2001). *Body Composition Analysis of Animals: A Handbook of Non-Destructive Methods*. Cambridge University Press, Cambridge.

**Steffen, J. M., Rigler, G. L., Moore, A. K. and Riedesel, M. L.** (1980). Urea recycling in active golden-mantled ground squirrels (*Spermophilus lateralis*). *Am J Physiol.* **239**(1), R168-73. doi: 10.1152/ajpregu.1980.239.1.R168

**Stevenson, R. D. and Woods W. A. Jr.** (2006). Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integr Comp Biol.* **46**(6), 1169-90. doi: 10.1093/icb/icl052.

**Stevenson K. T., van Tets, I. G.** (2008). Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) can accurately and nondestructively measure the body composition of small, free-living rodents. *Physiol Biochem Zool.* **81**(3):373-82. doi: 10.1086/587096.

**Stone, M. D., Arjmandi, B. H. and Lovern, M. B.** (2010). Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA) as a Non-Invasive Tool for the Prediction of Bone Density and Body Composition of Turtles. *Herpetological Review.* **41**(1): 36–42.

**Stone, M. D. and Turner, A. J.** (2012). Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) with Non-Human Vertebrates: Application, Challenges, and Practical Considerations for Research and Clinical Practice. In book: *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine.*

**Swennen, Q., Janssens, G. P., Geers, R., Decuypere, E. and Buyse, J.** (2004) Validation of dual-energy x-ray absorptiometry for determining in vivo body composition of chickens. *Poult Sci.* **83**(8), 1348-57. doi: 10.1093/ps/83.8.1348.

**Tattersall, G. J., Leite, C. A., Sanders, C. E., Cadena, V., Andrade, D. V., Abe, A. S. and Milsom, W. K.** (2016). Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards. *Sci Adv.* **2**(1):e1500951. doi: 10.1126/sciadv.1500951.

**Thibault, R., Genton, L. and Pichard, C.** (2012). Body composition: why, when and for who? *Clin Nutr.* **31**(4), 435-47. doi: 10.1016/j.clnu.2011.12.011.

**Toledo, L. F., Brito, S. P., Milsom, W. K., Abe, A. S. and Andrade, D. V.** (2008). Effects of season, temperature, and body mass on the standard metabolic rate of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). *Physiol Biochem Zool.* **81**(2):158-64. doi: 10.1086/524147.

**Toll, P. W., Gross, K. L., Berryhill, S. A. and Jewell, D. E.** (1994). Usefulness of dual energy X-ray absorptiometry for body composition measurement in adult dogs. *J Nutr.* **124**(12 Suppl):2601S-2603S. doi: 10.1093/jn/124.suppl\_12.2601S.

**Utz, J. C., Nelson, S., O'Toole, B. J. and van Breukelen, F.** (2009). Bone strength is maintained after 8 months of inactivity in hibernating golden-mantled ground squirrels, *Spermophilus lateralis*. *J Exp Biol.* **212**(17), 2746-52. doi: 10.1242/jeb.032854.

**Vazeille, E., Codran, A., Claustre, A., Averous, J., Listrat, A., Béchet, D., Taillandier, D., Dardevet, D., Attaix, D. and Combaret, L.** (2008). The ubiquitin-proteasome and the mitochondria-associated apoptotic pathways are sequentially downregulated during recovery after immobilization-induced muscle atrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **295**(5):E1181-90. doi: 10.1152/ajpendo.90532.2008.

**Verant, M. L., Meteyer, C. U., Speakman, J. R., Cryan, P. M., Lorch, J. M. and Blehert, D. S.** (2014). White-nose syndrome initiates a cascade of physiologic disturbances in the hibernating bat host. *BMC Physiol.* **14**, 10. doi: 10.1186/s12899-014-0010-4.

**Wang, Z. M., Pierson R. N. and Heymsfield, S. B.** (1992). The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *The American Journal of Clinical Nutrition.* **56**, 19–28. doi: 10.1093/ajcn/56.1.19.

**Warner, D. A., Johnson, M. S. and Nagy, T. R.** (2016). Validation of Body Condition Indices and Quantitative Magnetic Resonance in Estimating Body Composition in a Small Lizard. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol.* **325**(9), 588-597. doi: 10.1002/jez.2053.

**Webb, A. C., Iverson, J. B., Knapp, C. R., DeNardo, D. F. and French, S. S.** (2019). Energetic investment associated with vitellogenesis induces an oxidative cost of reproduction. *J Anim Ecol.* **88**(3), 461-472. doi: 10.1111/1365-2656.12936.

**Williams, C. T., Barnes, B. M. and Buck, C. L.** (2016). Integrating physiology, behavior, and energetics: Biologging in a free-living arctic hibernator.

Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. **202**, 53-62. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.04.020.

**Willmer, P., Stone, G. and Johnsyon, I.** (2005). Environmental Physiology of Animals. Blackwell Publishing.

**Wilsterman, K., Buck, C. L., Barnes, B. M. and Williams, C. T.** (2015). Energy regulation in context: Free-living female arctic ground squirrels modulate the relationship between thyroid hormones and activity among life history stages. *Horm Behav.* **7**, 111-9. doi: 10.1016/j.yhbeh.2015.09.003.

**Wojda, S. J., McGee-Lawrence, M. E., Gridley, R. A., Auger, J., Black, H. L. and Donahue, S. W.** (2012). Yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*) preserve bone strength and microstructure during hibernation. *Bone.* **50**(1), 182-8. doi: 10.1016/j.bone.2011.10.013.

**Wojda, S. J., Gridley, R. A., McGee-Lawrence, M. E., Drummer, T. D., Hess, A., Kohl, F., Barnes, B. M. and Donahue, S. W.** (2016). Arctic Ground Squirrels Limit Bone Loss during the Prolonged Physical Inactivity Associated with Hibernation. *Physiol Biochem Zool.* **89**(1), 72-80. doi: 10.1086/684619.

**Woo, N. Y. S. and Murat, J. C.** (1981). Studies on the biology of the red sea bream *Chrysophrys major* III. Metabolic response to starvation in different salinities. *Mar. Biol.* **61**, 255–260. Doi: 10.1007/BF00386668

**Wood, J. P., Beer, S. D., Campbell, T. S. and Page, R. B.** (2018). Insights into the introduction history and population genetic dynamics of the Argentine black-and-white tegu (*Salvator merianae*) in Florida. *Genetica.* **146**(6), 443-459. doi: 10.1007/s10709-018-0040-0.

**Young, R. A.** (1976). Fat, Energy and Mammalian Survival, *American Zoologist.* **16**(4), 699–710. doi: <https://doi.org/10.1093/icb/16.4.699>

**Zena, L. A., Dillon, D., Hunt, K. E., Navas, C. A., Bicego, K. C. and Buck, C. L.** (2019). Seasonal changes in plasma concentrations of the thyroid, glucocorticoid and reproductive hormones in the tegu lizard *Salvator merianae*. *Gen Comp Endocrinol.* **273**:134-143. doi: 10.1016/j.ygcen.2018.06.006.

**Zena, L. A., Dillon, D., Hunt, K. E., Navas, C. A., Buck, C. L. and Bicego, K. C.** (2020). Hormonal correlates of the annual cycle of activity and body temperature in the South-American tegu lizard (*Salvator merianae*). Gen Comp Endocrinol. **285**:113295. doi: 10.1016/j.ygcen.2019.113295.

**Zotti, A., Selleri, P., Carnier, P., Morgante, M. and Bernardini, D.** (2004). Relationship between metabolic bone disease and bone mineral density measured by dual-energy X-ray absorptiometry in the green iguana (*Iguana iguana*). Vet Radiol Ultrasound. **45**(1):10-6. doi: 10.1111/j.1740-8261.2004.04002.x.