

Capa

Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal

Universidade Federal da Bahia

Laís da Cunha Maciel

**Respiração de *Trachemys scripta elegans*
(Wied, 1838) e *Podocnemis unifilis* (Troschel,
1848) relacionada à flutuabilidade.**

Salvador

2011

Laís da Cunha Maciel

Respiração de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838) e *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) relacionada à flutuabilidade.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia para a obtenção do Título de Mestre em Zoologia pelo Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal.

Orientador: Wilfried Klein

Salvador

2011

Ficha catalográfica

Maciel, Laís

Respiração de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838) e *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) relacionada à flutuabilidade

Número de páginas (59)

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. Departamento de Zoologia. Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal.

1. Fisiologia respiratória 2. Flutuabilidade 3. Quelônios

I. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia. Departamento de Zoologia. Programa de Pós-graduação em Diversidade Animal.



Programa de Pós-Graduação em DIVERSIDADE ANIMAL

Instituto de Biologia,
Universidade Federal da Bahia
<http://www.diversidadeanimal.bio.ufba.br>



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO

DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Título da Dissertação: “Respiração de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838) e *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) relacionada à flutuabilidade”.

Mestrando: Laís da Cunha Maciel
Orientador: Dr. Wilfried Klein

De acordo com o regimento geral da UFBA e com o regimento interno deste programa de pós-graduação, foram iniciados os trabalhos da Comissão Examinadora, composta pelos professores **Dr. Wilfried Klein (presidente)**, **Dr. André Luís da Cruz** e **Dr. Augusto S. Abe**, às 14:00 horas do dia 17 de junho de 2011.

A mestranda fez a apresentação oral da dissertação durante 40 minutos. Após o encerramento das arguições, às 16:00 horas, a Comissão Examinadora pronunciou-se pela sua APROVAÇÃO, conforme parecer em anexo.

Esta Ata será assinada pelos membros da Comissão Examinadora e deste Colegiado, para compor o processo de emissão do diploma.

Salvador, 17 de junho de 2011.

COMISSÃO EXAMINADORA

Membro Dr. Wilfried Klein
Instituição: Universidade de São Paulo

Membro: Dr. Augusto S. Abe
Instituição: Universidade Estadual de São Paulo

Membro: Dr. André Luís da Cruz
Instituição: Universidade Federal da Bahia

COLEGIADO

Epígrafe

*Nossa maior fraqueza está
em desistir. O caminho
mais certo de vencer é
tentar mais uma vez.*

Thomas A. Edison

Agradecimentos

Trilhar um caminho que exige tanta maturidade e dedicação não é uma tarefa fácil, ainda mais quando somos obrigados a nos dividir entre duas paixões. Meu caminho foi compartilhado por uma escolha que não consegui fazer e abracei dois mundos. Estes mundos, a cada dia que passava, tornavam-se maiores e mais complexos e por isso, mais envolventes. Finalmente, consegui! Sem o apoio de tantas pessoas especiais não teria dado esse passo tão largo!

Agradecer a cada pessoa que de alguma forma me auxiliou a construir cada degrau dessa etapa é impossível. De algumas pessoas posso nem lembrar o nome, mas com certeza, a energia está guardada e está expressa em cada conhecimento absorvido com esta dissertação. A outras pessoas, por participarem ativamente deste processo, devo dedicar todas as conquistas que tive durante o mestrado e que terei daqui para frente.

Tenho que agradecer, em primeiro lugar a minha família, minha mãe, meu pai e meu irmão. Sem a confiança deles não teria nem ingressado no mestrado, muito menos concluído esta dissertação ao mesmo tempo em que me dedicava com tanto afincamento ao trabalho. Se eu disser que a minha mãe merece mais do que eu cada degrau que alcanço não é exagero, pois é ela que sempre está ao meu lado, dando força e mostrando o que é persistência. É minha mãe, que desde que sou pequenina pega na minha mão e me acreditar que sou capaz e nesta etapa da minha vida não foi diferente. Sem o apoio de minha família, provavelmente eu teria desistido. Não tenho dúvida que se não em tudo que já fiz, mas pelo menos nessa etapa da minha vida, eu não teria feito nada sem minha mãe. Aproveito para agradecer a minha família *lato sensu*, minhas avós, meus tios e primos, que torceram por mim.

Agradeço ao meu orientador, Wilfried Klein, que mais uma vez acreditou em mim e no meu potencial. Não tenho palavras para agradecer a sua compreensão e paciência ao longo de todos esses anos. Sua exigência me torna cada vez melhor e agora consigo ver isso. Agradeço também pela oportunidade que me deu de vivenciar o dia-a-dia de outro grupo de pesquisa, como pude ver na UNESP.

Ao Dr. Augusto Shinya Abe, por ter me recebido do Jacarezário da UNESP de Rio Claro. Sem esta oportunidade este estudo não teria sido possível. Agradeço também a toda a equipe do Jacarezário da UNESP de Rio Claro, dos pesquisadores aos auxiliares de serviços gerais, que receberam esta baiana de sotaque “arretado” como se fosse uma paulista da gema!

Ainda nos trinta que passei em Rio Claro pude conhecer e conviver com Samanta Pereira, Noely Sartori, Carlinhos e Felipe Frossard. Agradeço pelo carinho durante a minha estadia e tenho certeza que estas são amizades que levarei para toda a vida. A Felipe, agradeço especialmente pelo auxílio com as ilustrações desta dissertação.

Meus colegas do mestrado também foram importantes para que eu pudesse concluir esta etapa e agradeço a Karina Martins, como representante de todos. Kaká foi companheira e torcedora até o último momento. Ela acompanhou cada etapa e viveu as mesmas angústias e alegrias!

Agradeço a Daniella Blinder, Luzinaldo Passos, Floriano Alvarez e Carla Mariane, em nome de todos os meus colegas e amigos da Secretaria do Meio Ambiente do Estado da Bahia. Sem a compreensão de vocês não seria possível conciliar as atividades do mestrado com o trabalho. Tenham certeza que nunca me esquecerei disso!

Não poderia esquecer Gilson Carvalho, pois ele nunca me esqueceu. Agradeço por ele nunca me deixar desistir, por me admirar e confiar no meu trabalho, por me auxiliar

com todas as análises estatísticas e o mais importante, por ser meu amigo e estar sempre presente nas minhas conquistas profissionais, acadêmicas e pessoais.

Agradeço a meus colegas do LAFISA, principalmente à Vanessa Bonfim e André Cruz. Espero nunca decepcioná-los, pois o carinho e confiança que depositam em mim são imensos e ajudam a mover montanhas.

Agradeço a Fábio por todos os dias que passou ao meu lado sem nem ao menos reclamar enquanto eu só pensava em dissertação, pelos conselhos diários, por me acalmar quando eu achava que não conseguiria e pelo carinho que recebi integralmente desde o dia em que nos conhecemos! Obrigada por tudo!

Por fim, agradeço mais uma vez a todos os meus amigos, colegas e familiares que aturaram uma mestrandia à beira de um ataque. Sem cada um de vocês eu confesso que não seria capaz!

Índice

Introdução geral.....	9
Capítulo 1.....	14
Resumo.....	15
<i>Abstract</i>	16
Introdução.....	17
Materiais e métodos.....	20
Animais e desenho experimental.....	20
Tratamento dos dados.....	21
Análise estatística.....	22
Resultados.....	23
Parâmetros respiratórios.....	23
Comparação interespecífica.....	25
Comparação intraespecífica.....	25
Discussão.....	26
Efeito da manipulação da flutuabilidade.....	26
Efeito da espécie.....	28
Efeito do tamanho/ estágio de desenvolvimento.....	28
Agradecimentos.....	30
Referências bibliográficas.....	31
Lista de figuras e tabelas.....	35
Abreviaturas utilizadas e suas unidades.....	38
Dados.....	39
Figuras.....	42
Conclusões finais.....	46
Anexo.....	47
Normas para submissão de manuscrito na <i>The Journal of Experimental Biology</i>	47
Referências bibliográficas.....	53

Introdução geral

As tartarugas são um dos exemplos mais claros de um grupo monofilético na zoologia, possuindo óbvia sinapomorfias morfológicas (Pough *et al.*, 2008). Caracteres morfológicos de táxons fósseis e existentes há muito tempo têm sido utilizados para unir as tartarugas como um grupo monofilético e para resolver o posicionamento filogenético de algumas espécies (Gaffney, 1984; Gaffney e Meylan, 1988; Gaffney *et al.*, 1991). Atualmente, as relações evolutivas entre os clados de tartarugas têm melhorado muito, principalmente devido ao aumento recente do número de estudos sobre o táxon e ao aumento na amostragem de dados (Barley *et al.*, 2009).

Desde o trabalho do Cope (1871), os Testudines têm sido classificados em uma das duas subordens, a Pleurodira (do Grego, *pleuro* = lado, *dire* = pescoço) ou Cryptodira (do Grego, *crypto* = escondido, *dire* = pescoço) (Gaffney, 1984). Embora o monofiletismo da maioria das famílias de quelônios e das duas subordens seja razoavelmente bem aceito, as relações entre as famílias, particularmente da subordem Cryptodira são mal compreendidas e baseada em um alguns caracteres morfológicos (Gaffney, 1975, 1984; Bickham e Carr, 1983; Gaffney e Meylan, 1988; Gaffney *et al.*, 1991).

De acordo com estudos moleculares recentes (Krenz *et al.*, 2005) a família Podocnemidae está suportada na subordem Pleurodira. Já a família Emydidae, pertence a subordem Cryptodia (Krenz *et al.*, 2005; Barley *et al.*, 2009).

Os quelônios da família Podocnemidae, conhecido por existirem desde o Cretáceo, engloba muitas espécies extintas e oito espécies de água doce viventes e existentes na América do Sul e em Madagascar (Pritchard e Trebbau, 1984; Wood 1984, 1997; de Lapparent de Broin, 2000, 2001, Carvalho *et al.*, 2002). Podocnemidae possui uma única espécie do gênero *Peltocephalus* que é a *P. dumerilianus* e contém seis espécies do gênero *Podocnemis* (*P. erythrocephala*, *P. expansa*, *P. lewyana*, *P. sextuberculata*, *P. unifilis* e *P. vogli*). O gênero *Erymnochelys*, também integrante da família Podocnemidae, é monotípico e a única espécie a ser incluída neste gênero é *E. madagascariensis*, cuja a distribuição é restrita a ilha de Madagascar (Frair *et al.*, 1978; Ernst *et al.*, 2000; Fritz e Havas, 2007). Uma avaliação completa da filogenia molecular e zoogeografia da Podocnemidae não havia sido estudada antes, e as relações filogenéticas nas seis espécies de *Podocnemis* permanecem desconhecidos até o estudo de Vargas-Ramírez *et al.* (2008).

Podocnemis unifilis (Troschel, 1848) é conhecida popularmente como tracajá e é originalmente encontrada nas bacias hidrográficas dos rios Amazonas e Orinoco (Pritchard e Trebbau, 1984; Iverson, 1992). Esta espécie de médio porte é descrita como vulnerável, ou seja, está enfrentando um risco alto de extinção na natureza no futuro em médio prazo (IUCN, 2010). Ainda abundante localmente, muitas populações de tracajá estão sofrendo um declínio drástico, devido ao consumo humano dos ovos e das fêmeas adultas (Thorbjarnarson *et al.*, 2000).

A família Emydidae contém 40 espécies atualmente reconhecidas em dez gêneros (Ernst e Barbour, 1989; Ernst *et al.*, 1994; Vanzolini, 1995). Esta família inclui muitas tartarugas norte-americanas, como as tartarugas de caixa (*Terrapene*), tartarugas pintada (*Chrysemys picta*), as tartarugas conhecidas como “cooters” (*Pseudemys*) e as deslizantes (*Trachemys*). Na América do Norte, os gêneros da família Emydidae são, sem sombra de dúvida, o grupo mais abundante, mais especializado e ecologicamente mais diverso (Ernst *et al.*, 1994). Emydidae também ocorrem na América Central, Antilhas, América do Sul, Europa e norte da África (Iverson, 1992). As linhagens de Emydidae se especializaram ao longo de dois eixos ecológicos (habitat e dieta), e em diferentes direções em cada eixo (ou seja, carnívoros vs. herbívoros e aquáticos vs. terrestres; Ernst e Barbour, 1989; Ernst *et al.*, 1994). Além de espécies especialistas, a família também inclui espécies generalistas, como o gênero *Trachemys* (Ernst e Barbour, 1989).

Um estudo recente (Seidel, 2002) indica que muitos das subespécies de *T. scripta* são amplamente alopátrica e morfologicamente distintas. Este resultado corrobora estudos bioquímicos e comportamentais (Seidel, 1988; Starkey, 1997). Foi proposta uma taxonomia para o gênero *Trachemys*, dividindo-o em 15 espécies, das quais oito são politípicas, dentre estas, está a espécie *Trachemys scripta*, que se subdivide em *T. s. scripta* (Schoepff, 1792), *T. s. elegans* (Wied, 1838) e *T. s. troostii* (Holbrook, 1836).

Trachemys scripta elegans (Wied, 1838) é uma tartaruga de hábito semi-aquático, nativa da América do Norte, e a sua distribuição geográfica natural abrange a área que vai do leste dos Estados Unidos até o nordeste do México (Ernst e Barbour, 1989). É conhecida popularmente como tigre d’água americano ou tartaruga de orelha vermelha, por possuir duas manchas vermelhas, uma em cada lado da cabeça, ou como os norte-americanos a chamam “*red-eared slider*”, por ter o hábito de deslizar em direção a água quando se sente ameaçada por predadores (Conant e Collins, 1998; Caldogneto *et al.*, 2002).

As características morfológicas que distinguem os quelônios dos demais animais, como a carapaça, o plastrão e a localização do ombro dentro da caixa torácica já eram bem desenvolvidos na primeira tartaruga conhecida (Gaffney, 1990). O casco dos quelônios é uma característica que proporcionou o sucesso do grupo até os dias atuais, porém, também limitou a sua diversidade morfofisiológica (Pough *et al.*, 2008) e seus padrões comportamentais (Molina, 1992).

Nas tartarugas, as costelas e a coluna vertebral tornaram-se incorporados a uma carapaça dorsal, e o ventre é coberto com um plastrão ósseo. As costelas são imóveis, fixada à carapaça e, portanto, a aspiração a partir da rotação das costelas não é possível (Brainerd, 1999). Em vez disso, as tartarugas usam movimentos do plastrão, dos membros e das cinturas para ventilar os pulmões (Gaunt e Gans, 1969).

Para a exalação, os músculos *transversus abdominis* e *diaphragmaticus* para elevar o plastrão, diminuindo assim o volume da cavidade pleuroperitoneal. É importante ressaltar que o músculo *diaphragmaticus* em tartarugas não é homólogo ao músculo de mesmo nome dos mamíferos ou dos crocodilos (Barley *et al.*, 2009).

Durante a inalação, os músculos *obliquus abdominis* e *testocoracoideus* se contraem para aumentar o volume da cavidade pleuroperitoneal, assim é possível aspirar o ar para os pulmões. Movimentos dos membros e cinturas além de deformação da carapaça também podem produzir mudanças no volume do pulmão, mas estes movimentos não parecem contribuir significativamente para a ventilação pulmonar de rotina dos quelônios (Barley *et al.*, 2009).

Por ser uma estrutura rígida, o casco dos Testudines comporta um volume relativamente fixo de ar, sendo necessária movimentação das partes flexíveis do corpo ao interior do casco para expulsar o ar dos pulmões. Essa restrição de volume constante sugere que durante locomoção, o movimento dos membros pode afetar o desempenho da respiração (Landberg *et al.*, 2003). Como as alterações do volume no interior do casco são limitadas, a ventilação é realizada principalmente pelo movimento das pernas e dos músculos da parede inguinal do corpo (Duncker, 2004). Os mecanismos de respiração das tartarugas têm fomentado o interesse dos cientistas durante muitos séculos (ver Malpighi, 1671; Mitchell e Morehouse, 1863; Gans e Hughes, 1967).

Além das dificuldades relacionadas à morfologia que dificultam o fluxo respiratório, os quelônios de hábito aquático e semi-aquático enfrentam um problema comum aos animais que compartilham deste hábito: a regulação da flutuabilidade. A densidade dos tecidos corpóreos muitas vezes é superior à densidade da água (Pelster, 2009), portanto é

necessário um esforço a mais para manter-se em equilíbrio na água. Outro considerável problema para um animal que mergulha com ar em seus pulmões é o esforço extra e a energia necessária para superar o resultado positivo da flutuabilidade durante a descida (Hochscheid *et al.*, 2007). Visando solucionar este problema, muitos vertebrados aquáticos adotaram diferentes estratégias comportamentais ou mecanismos para compensar a flutuabilidade, a fim de reduzir o gasto de energia (Pelster, 2009).

Quelônios possuem ainda cascos ósseos que representam de 25 a 35% da massa corpórea e apresenta densidade corporal de aproximadamente 1,44 (Jackson, 1969). Já que a densidade da água dulciquícola é aproximadamente 1,0 (Zug, 1971), logo os quelônios dulciaquícolas apresentam tendência a submergir na coluna d'água.

Poucos processos são tão vitais para a vida como respiração (Maina, 2000). Porém, nosso conhecimento da função do sistema respiratório dos Testudines é baseado em um pequeno número de espécies (Klein e Codd, 2010). Descrições das estruturas respiratórias só estão disponíveis para um algumas espécies (Perry, 1998) e medidas de ventilação durante locomoção são raras (Landberg *et al.*, 2003, 2009).

Alguns experimentos visando testar o controle da flutuabilidade dos cágados alteram o centro gravitacional e a densidade do animal, inserindo pesos ou bóias sob o casco dos animais, com o objetivo de observar a capacidade do animal de retornar ao seu equilíbrio hidrodinâmico normal (Jackson, 1969). Porém a descrição dos parâmetros da fisiologia respiratória ainda não foi estudada e esta pode ser uma estratégia adotada pelos quelônios de hábito semi-aquático para minimizar estes problemas.

Existe também uma forte e estreita relação entre o tamanho do corpo e a duração do mergulho e isto foi proposto como uma regra geral para os vertebrados marinhos que respiram ar (Schreer e Kovacs, 1997; Halsey *et al.*, 2006a, b). No entanto, não é esperado que essa regra geral se aplique igualmente em todos os vertebrados de respiração aérea. Restrições sobre a duração do mergulho devem ser aplicadas com muito menos relação para os ectotérmicos do que para os animais endotérmicos (Brischoux *et al.*, 2008).

É difícil identificar uma correlação clara entre respiração e tamanho em quelônios (Boyer, 1963). Considerando que relações alométricas podem ser utilizadas para melhor descrever a capacidade de mergulho de diversas espécies de vertebrados, é necessário investigar se a alometria também altera os parâmetros respiratórios dentro de uma mesma espécie, quando é levando em consideração os variados tamanhos.

Diante deste contexto, os principais objetivos deste estudo são: descrever os parâmetros respiratórios das espécies *Trachemys scripta elegans* e *Podocnemis unifilis*,

submetidos à manipulação da flutuabilidade e em condições naturais; identificar se há diferença na fisiologia respiratória entre indivíduos adultos de duas espécies submetidos a manipulações de flutuabilidade, e; identificar se os parâmetros respiratórios se diferenciam quando comparados indivíduos de uma mesma espécie, em diferentes estágios de desenvolvimento, submetidos à manipulação da flutuabilidade.

Capítulo 1

Artigo a ser submetido à Journal Experimental Biology

**Respiração de *Trachemys scripta elegans* (Wied, 1838) e *Podocnemis unifilis*
(Troschel, 1848) relacionada à flutuabilidade.**

Laís da C. Maciel^{1,2,5}, Augusto S. Abe^{2,4}, Wilfried Klein^{1,2,3}

¹Laboratório de Fisiologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Geremoabo, 147 - Campus de Ondina - CEP 40170-290, Salvador, BA, Brasil

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Fisiologia Comparada, Universidade Estadual Paulista, Av. 24-A, 1515 - Bela Vista - CEP: 13506-900 - Rio Claro, SP, Brasil

³Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Avenida Bandeirantes, 3900. Monte Alegre – CEP 14040-901 - Ribeirão Preto, São Paulo, - Brasil.

⁴Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Av. 24-A, 1515 - Bela Vista - CEP: 13506-900 - Rio Claro, SP, Brasil

⁵Autor para Correspondência. E-mail: maciel.lais@gmail.com

Resumo

Os custos de uma vida aquática são susceptíveis a um fortemente influenciado da capacidade de controlar a flutuabilidade de um animal. O casco dos quelônios os torna negativamente flutuante, e por isso, a tendência destes animais compensarem a flutuabilidade através de alterações de volumes ar contido nos pulmões. A alteração do volume pulmonar é essencial ao controle da flutuabilidade, visto que volume corporal é relativamente fixo determinado por limitações da carapaça rígida. Foram estudados parâmetros respiratórios em duas espécies a *T. s. elegans* e *P. unifilis*. Mensuramos a frequência respiratória (f_R), frequência dos episódios (f_E), volume corrente (V_T), duração de expiração (T_{EXP}), duração da inspiração (T_{INSP}), duração de uma ventilação (T_{VENT}), ou seja o somatório de T_{EXP} e T_{INSP} , a duração do total dos movimentos respiratórios durante todo o experimento (T_{TOT}), a duração do período não ventilatório (T_{PNV}) e o consumo de oxigênio por respiração (V_bO_2). A partir destas medições, foram calculados o consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$), volume de oxigênio consumido por episódio ventilatório ($\dot{V}O_{2EPS}$), a taxa de ventilação total (\dot{V}_E) e o volume de ar movimentado através do sistema respiratório necessário para extrair 1 ml de O_2 consumido pelo animal ($\dot{V}_E/\dot{V}O_2$). Foi observado que o tamanho de indivíduos da espécie *T. s. elegans* exerce um efeito significativo nos parâmetros respiratórios e que houve diferenças significativas entre as duas espécies estudadas. As manipulações na flutuabilidade não exerceram variação nos parâmetros respiratórios dos grupos *T. s. elegans* adulto, *T. s. elegans* juvenil e *P. unifilis*.

Abstract

The costs of an aquatic life are likely to be strongly influenced by an animal's buoyancy. The shells of chelonians are negatively buoyant, and the tendency to sink is opposed by air in the lungs. Turtles can therefore regulate buoyancy by adjusting lung volume, but must do so within the constraint of a relatively fixed body volume set by the rigid shell. Respiratory parameters were studied in two species: *T. s. elegans* and *P. unifilis*. Respiratory frequency (f_R), frequency of episodes (f_E), tidal volume (V_T), duration of expiration (T_{EXP}), duration of inspiration (T_{INSP}), duration of ventilation (T_{VENT}), duration of total respiratory movements throughout the experiment (T_{TOT}), the duration of the not-ventilatory period (T_{PNV}) and oxygen consumption by respiration (V_bO_2) were measured. From these measurements, oxygen consumption ($\dot{V}O_2$), volume of oxygen consumed by respiratory episode ($\dot{V}O_{2EPS}$), the total ventilation rate (\dot{V}_E) and the air convection requirement ($\dot{V}_E/\dot{V}O_2$) were calculated. It was observed that the size of individuals of *T. s. elegans* have a significant effect on respiratory parameters as well as significant differences between the two species analysed have been found. The manipulations of buoyancy did not result in significant variation in respiratory parameters studied.

Introdução

Para qualquer animal aquático, os custos e benefícios da vida submarina tendem a ser fortemente influenciados pela flutuabilidade e, por isto, uma grande variedade de mecanismos evoluíram para que fosse possível regular a densidade corporal desses animais (Schmidt-Nielsen, 1990; Taylor, 1994). Alguns vertebrados também adotaram diferentes estratégias comportamentais ou mecanismos para compensar a flutuabilidade, a fim de reduzir o gasto de energia com a natação (Pelster, 2009).

Quelônios são particularmente interessantes neste sentido, pois este grupo apresenta um casco ósseo que representa, em média, de 25 a 35% da massa corpórea (Iverson, 1984; Jackson, 2000; Marvin e Lutterschmidt, 1997; Miller e Birchard, 2005; Zani e Claussen, 1994), e apresenta densidade corporal de aproximadamente 1,44, ou seja, maior do que a densidade da água dulciquícola, que é aproximadamente 1,0 (Jackson, 1969; Zug, 1971). Apesar da elevada densidade, devido ao esqueleto ósseo, os quelônios aquáticos necessitam emergir na superfície periodicamente para respirar o ar atmosférico (Gordos e Franklin, 2002; Gordos *et al.*, 2004). Além de uma poderosa capacidade de natação, a tendência a afundar pode ser contrabalanceada pela diminuição da densidade corporal total, provocada pela elevação do volume de ar nos pulmões (Jackson, 1969; Milsom, 1975).

Estudos recentes indicam que as tartarugas marinhas podem controlar a flutuabilidade através de alterações no volume pulmonar de acordo com a profundidade que ocupa na coluna d'água e de acordo com a duração do mergulho (Milsom, 1975; Milsom e Johansen, 1975; Boyd, 1997; Minamikawa *et al.*, 1997). Algumas espécies de quelônio de água doce, como *Trachemys scripta elegans* e *Chrysemys picta* também podem ajustar o volume pulmonar residual para compensar manipulações experimentais na flutuabilidade (Jackson, 1969; Milsom e Chan, 1986), entretanto, o mecanismo descrito para manter volume pulmonar em *T. scripta* é diferente do mecanismo utilizado pelas tartarugas marinhas (Peterson e Gomez, 2008).

Alguns experimentos visando testar o controle da flutuabilidade dos cágados alteram o centro gravitacional e a densidade do animal, inserindo pesos ou bóias sob o casco, com o objetivo de observar a capacidade do animal de retornar ao seu equilíbrio hidrodinâmico normal (Jackson, 1969, Peterson e Gomez, 2008). Alguns estudos sugerem que o controle da flutuabilidade através de alterações do volume pulmonar pode afetar os padrões de

ventilação dos quelônios (Milsom e Chan, 1986; Milsom e Johansen, 1975), porém, a fisiologia respiratória ainda não foi estudada quando os quelônios estão submetidos a manipulações da flutuabilidade.

Nos répteis, a respiração normal em repouso é, dependendo da temperatura corpórea, intermitente, ao contrário dos mamíferos nos quais a respiração é contínua. O padrão reptiliano é caracterizado por uma expiração seguida por uma inspiração seguida de uma apnéia ou episódios respiratórios separados por períodos de apnéia com duração variável (McCutcheon, 1943; Gans e Hughes, 1967; Naifeh *et al.*, 1970; Gans e Clark, 1976; Glass e Johansen, 1976; Milsom e Chan, 1986). Sob condições apropriadas, esses animais podem respirar de forma contínua (Milsom, 1991). Muito pouco se sabe sobre a relação entre o esforço de respiração e os padrões de respiração ou sobre a resposta do padrão respiratório intermitente (Vitalis e Milsom, 1986a, 1986b).

Um estudo demonstrou que o aumento do volume pulmonar de repouso de tartarugas (*Chrysemys picta*), que respiram episodicamente, aumentou o número de respirações em cada episódio e prolongou os períodos de suspensão da respiração entre os episódios, porém esta alteração mantém a frequência respiratória global inalterada (Milsom e Chan, 1986). Apesar de estudos demonstrarem que as variações do volume pulmonar desempenham um papel importante no controle do padrão de respiração das tartarugas em condições de repouso (Milsom e Chan, 1986), ainda é necessário descrever a fisiologia respiratória quando a flutuabilidade é alterada.

Existe também uma forte e estreita relação entre o tamanho do corpo de um animal e a duração do mergulho e isto foi proposto como uma regra geral para os vertebrados marinhos que respiram ar (Schreer e Kovacs, 1997; Halsey *et al.*, 2006a, 2006b). No entanto, não se espera que essa regra geral se aplique igualmente em todos os vertebrados de respiração aérea. Restrições sobre a duração do mergulho devem ser aplicadas com muito menos relação para os ectotérmicos do que para os animais endotérmicos (Brischouxet *et al.*, 2008). Notadamente, a baixa taxa metabólica de animais ectotérmicos, quando comparados aos endotérmicos, reduz consideravelmente suas demandas de oxigênio (Pough, 1980). Da mesma forma, a flexibilidade de vertebrados ectotérmicos marcada para quase todos os seus parâmetros fisiológicos (temperatura corporal, anoxia, acidose, glicemia) (Belkin, 1963; Shelton e Boutilier, 1982) sugere que a influência da massa corporal na duração do mergulho, por si só deva ser mais flexível quando comparadas com as taxas dos endotérmicos. Consequentemente, para uma determinada massa corporal, pode-se esperar que, em média, os vertebrados ectotérmicos que respiram

ar devam ser capazes de permanecer debaixo d'água sem respirar por maiores períodos de tempo em comparação com as espécies endotérmicas de mesma massa (Brischouxet *et al.*, 2008). Existe também uma dificuldade de identificar uma correlação clara entre a respiração e o tamanho em tartarugas (Boyer, 1963). Considerando que relações alométricas podem ser utilizadas para melhor descrever a capacidade de mergulho de diversas espécies de vertebrados, é necessário investigar se a alometria altera a capacidade de mergulho dentro de uma mesma espécie, quando levado em consideração tamanhos variados de indivíduos e se isto se reflete na alteração dos parâmetros respiratórios.

Este estudo tem como objetivo descrever os parâmetros da fisiologia respiratória das espécies *Trachemys scripta elegans* e *Podocnemis unifilis* quando submetido à manipulação da fluutuabilidade, além de identificar se há diferença na fisiologia respiratória interespecífica, comparando *Trachemys scripta elegans* e *Podocnemis unifilis* ou intraespecífica comparando juvenis e adultos de *Trachemys scripta elegans*.

Materiais e métodos

Animais e desenho experimental

Em fevereiro de 2010, foram coletados 24 cágados no Jacarezário da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), em Rio Claro. Os espécimes coletados foram separados em três grupos: adultos e juvenis da espécie *Trachemys scripta elegans* e adultos da espécie *Podocnemis unifilis* (n= 8 para cada grupo).

Os indivíduos da espécie *Podocnemis unifilis* pesavam em média 0,74 kg ($\pm 0,11$) e o comprimento curvilíneo médio do casaco era 19,81 cm ($\pm 0,96$). Já os adultos da espécie *Trachemys scripta elegans* pesavam em média 0,94 kg ($\pm 0,15$) e o comprimento curvilíneo médio do casaco era 20,06 cm ($\pm 0,98$) quando os juvenis desta mesma espécie pesavam em média 0,28 kg ($\pm 0,06$) e o comprimento curvilíneo médio do casaco era 13,31 cm ($\pm 1,03$).

Cada animal foi colocado em um recipiente experimental 12 horas antes da realização das primeiras medições onde permaneceu imperturbável até o final do experimento. A temperatura da água durante o experimento foi mantida em 25°C.

Um primeiro experimento foi realizado e o padrão ventilatório foi registrado por um período mínimo de 120 minutos, para todos os animais sem manipulação da fluabilidade, denominado de experimento controle. Após este experimento, foi utilizado um método similar aos estudos de Jackson (1969, 1971) e Milsom (1975) que examinaram a habilidade de quelônios de regular a fluabilidade. Todos os indivíduos foram examinados em três tratamentos:

- adicionando de 5-7% da massa do indivíduo em forma de chumbo fixado no animal em posição dorsal usando fita adesiva multiuso;
- adicionando de 5-7% da massa do indivíduo em forma de madeira menos densa que a água fixada no animal em posição ventral usando fita adesiva multiuso; e,

Entre cada tratamento foi dado um intervalo de 48 horas para cada indivíduo e os animais ficavam por 12 horas no período de aclimação, no recipiente de estudos, já com o peso ou o flutuador afixado, ou ainda, sem manipulação da fluabilidade.

Para analisar o mecanismo respiratório os indivíduos estudados foram colocados em baldes contendo água, limitados a uma única saída de ar para a superfície. Esta saída era limitada por um funil e este estava conectado a um analisador de O₂ e medidor de pressão

barométrica (PA-10 SABLE SYSTEMS) e ao medidor de pressão (PT-200 SABLE SYSTEMS) que mediu as variações de pressão num *pneumotach* inserido no funil. Todos os indivíduos foram pesados ao início e ao final de cada sessão de análise, sendo que cada sessão tinha uma duração total de 2 horas. Para fins estatísticos, para cada animal e em cada tratamento, foi analisado um período de 40 minutos.

A ventilação foi medida utilizando um funil, semelhante à máscara descrita por Glass *et al.* (1978) e modificado por Wang e Warburton (1995). O mesmo funil, com a mesma medida de água e o mesmo volume de ar foi utilizado para todos os indivíduos e em todos os tratamentos (ver Apêndice 3). Foram utilizados os seguintes aparelhos da Sable Systems International. O aparelho SS-4 Sub-sampler gerava um fluxo contínuo de ar, portanto, as alterações no fluxo de saída são indicativas dos movimentos ventilatórios.

Como foi utilizado o mesmo funil para todos os experimentos, a cada dois dias de experimento eram adicionados de volumes de ar com percentuais de O₂ conhecidos através uma seringa, com o objetivo de estabelecer a calibração do analisador de oxigênio. A relação entre a área integrada do transdutor de sinais do analisador de oxigênio e o percentual de O₂ injetado no funil foi descrito com precisão por uma regressão linear ($r^2 = 0,95$), cuja equação foi utilizada para calcular o consumo de oxigênio.

Com o objetivo de calibrar o medidor de pressão diferencial Sable Systems PT-200 foram adicionados ao sistema volumes conhecidos de ar através de seringas de diferentes volumes. Foram simulados movimentos de expiração e de inspiração. A relação entre a área integrada do transdutor de sinais do medidor de pressão diferencial e valor injetado no sistema foi descrito com precisão por uma regressão linear ($r^2 = 0,98$), cuja equação foi utilizada para calcular o volume da expiração e também da inspiração.

Tratamento dos dados

Os seguintes dados foram analisados: frequência respiratória (fR), frequência dos episódios (fE), volume corrente (V_T), duração de expiração (T_{EXP}), duração da inspiração (T_{INSP}), duração de uma ventilação (T_{VENT}), ou seja o somatório de T_{EXP} e T_{INSP} , a duração do total dos movimentos respiratórios durante todo o experimento (T_{TOT}), a duração do período não ventilatório (T_{PNV}) e o consumo de oxigênio por respiração ($V_b O_2$). A partir destas medições, foram calculados o consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$), volume de oxigênio consumido por episódio ventilatório ($\dot{V}O_{2EPS}$), a taxa de ventilação total (\dot{V}_E) e o volume de ar movimentado através do sistema respiratório necessário para extrair 1 ml de O₂

consumido pelo animal ($\dot{V}_E/\dot{V}O_2$). Uma lista com todas as explicações das abreviaturas e unidades utilizadas neste estudo pode ser vista no apêndice.

Análise estatística

Após pré-tratamento dos dados descritos na sessão anterior, foram construídas planilhas visando calcular médias para cada tratamento realizado. As médias foram calculadas de acordo com a espécie, fase de desenvolvimento do animal e com o tratamento utilizado (controle, bóia e peso).

O desenho experimental do presente trabalho considerou duas fontes de variação importantes: as espécies no estágio adulto (*Podocnemis unifilis* e *Trachemys scripta elegans*) ou idade, quando comparados dentro da mesma espécie (*Trachemys scripta elegans* adulto e *Trachemys scripta elegans* juvenil) e o tratamento aos quais os animais foram submetidos (controle, bóia e peso).

A estratégia analítica mais eficaz para o plano fatorial explanado anteriormente é uma TWO-WAY ANOVA (Análise de variância de dupla entrada). Visando avaliar os pressupostos para execução da ANOVA TWO-WAY foram calculadas estatísticas descritivas, bem como testes de normalidade e homogeneidade nas variâncias. As análises estatísticas foram realizadas no pacote GraphPad Prism, versão 5.00 para Windows. As análises foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Nos casos em que os tratamentos foram significativos na ANOVA TWO-WAY foi realizado o teste de Bonferroni para detectar diferenças entre os grupos. O teste de Bonferroni é uma comparação múltipla usada quando vários testes são realizados simultaneamente.

Na comparação entre os grupos, os testes de ANOVA e de Bonferroni foram aplicados com nível de significância de 0,05. Níveis descritivos (P) inferiores a esse valor foram considerados significantes.

Resultados

Parâmetros respiratórios

Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os parâmetros ventilatórios quando comparados os tratamentos, dentro de cada grupo estudado (*T. s. elegans* adulto, *T. s. elegans* juvenil e *P. unifilis*) (Tab. 1).

Os ciclos ventilatórios das espécies *T. s. elegans* e *P. unifilis* iniciam-se com uma expiração, seguida de uma inspiração, ambas com duração de tempo semelhante. Foi observada uma alteração nos padrões ventilatórios para as diferentes manipulações da fluutuabilidade, porém um modelo geral não pôde ser descritos devido às variações individuais.

A espécie *P. unifilis*, quando comparada com os adultos e juvenis da espécie *T. s. elegans*, permaneceu a maioria do período do experimento sem realizar movimentos ventilatório. Quando comparados os indivíduos adultos e os juvenis da espécie *T. s. elegans* é possível observar que os adultos permanecem por um maior intervalo de tempo realizando movimentos respiratórios (Fig. 3). Os indivíduos da espécie *P. unifilis*, em todos os tratamentos permaneceram por $37,34 \pm 0,64$ (média \pm SD; Fig. 4) minutos em apnéia (T_{PNV}), o que representa a maior parte do experimento.

A duração média das expirações (T_{EXP}) dos adultos da espécie *T. s. elegans* foi maior do que a T_{EXP} dos juvenis da mesma espécie e dos adultos da espécie *P. unifilis*, exceto para a manipulação da que adicionava bóia, para o qual, os valores de T_{EXP} dos juvenis de *T. s. elegans* forma maiores do que para os outros grupos analisados (Fig. 5).

A duração média das inspirações (T_{INSP}) foi quase a mesma para todos os tratamentos da espécie *P. unifilis*, variando muito pouco em relação a cada tratamento. O mesmo foi observado para os valores de T_{INSP} para os adultos da espécie *T. s. elegans*. Os juvenis da espécie *T. s. elegans* apresentaram a T_{INSP} maior quando submetido ao acréscimo de peso (Fig. 6).

Para os indivíduos adultos e juvenis da espécie *T. s. elegans*, o tratamento em que era adicionado peso para manipular a fluutuabilidade apresentou maiores valores para a duração de uma ventilação (T_{VENT}), quando comparados os demais tratamentos. Os indivíduos da espécie *P. unifilis* apresentaram semelhantes T_{VENT} para todos os tratamentos, sendo que os valores de T_{VENT} quando submetidos às manipulações da fluutuabilidade (Peso:

1,73±0,62s; Bóia: 1,54±0,28s) foram inferiores ao T_{VENT} quando não havia manipulação da fluuabilidade (Controle: 1,96±0,62s) (média ± SD; Fig. 7).

Os ciclos ventilatórios das duas espécies analisadas, para todos os tratamentos, se caracterizavam por episódios ventilatórios bem definidos e cada episódio pôde se representado por uma curva de consumo de oxigênio. A frequência dos episódios (fE) variou de acordo com a idade e de acordo com a espécie analisada. A espécie *P. unifilis* apresentou o valor de fE bastante inferior, quando comparado ao adultos e juvenis de *T. s. elegans* (Fig. 8).

O volume de oxigênio consumido por episódio ventilatório ($\dot{V}O_{2EPS}$) é maior para todos os tratamentos da espécie *P. unifilis*, quando comparado com *T. s. elegans*, o que representa um consumo de oxigênio elevado, quando observada a baixa fE para essa espécie. O $\dot{V}O_{2EPS}$ foi semelhante para as manipulações de fluuabilidade nos indivíduos adultos de *T. s. elegans* (Fig. 9).

Os indivíduos adultos da espécie *T. s. elegans* apresentaram a taxa de ventilação total (\dot{V}_E) superior para todos os tratamentos, quando comparados com os juvenis da mesma espécie e, também, quando comparados aos adultos da espécie *P. unifilis* (Fig. 10).

O volume corrente (V_T) dos indivíduos adultos da espécie *T. s. elegans* foi superior ao V_T dos indivíduos juvenis da mesma espécie, para todos os tratamentos. Quando comparados os valores de V_T dos indivíduos adultos de *T. s. elegans* e *P. unifilis*, foi possível observar um padrão, visto que o V_T dos indivíduos da espécie *P. unifilis* foram inferiores ao V_T dos *T. s. elegans* adultos, quando submetidos à manipulação da fluuabilidade. Quando não foi manipulada a fluuabilidade (tratamento Controle), os valores de V_T para a espécie *P. unifilis*, foram superiores aos *T. s. elegans* adultos (Fig.11).

A frequência respiratória (fR) dos adultos da espécie *T. s. elegans* foi superior a fR dos juvenis da mesma espécie e dos *P. unifilis* adultos (Fig. 12).

Os juvenis da espécie *T. s. elegans* consumiram um maior volume de oxigênio por ciclo ventilatório (V_bO_2) quando submetidos a manipulação da fluuabilidade. Este mesmo padrão não foi observado para os indivíduos adultos desta mesma espécie, não para a espécie *P. unifilis* (Fig. 13).

Os juvenis da espécie *T. s. elegans* consumiram também um maior volume de oxigênio por minuto ($\dot{V}O_2$). Os adultos da espécie *T. s. elegans* e *P. unifilis* apresentaram valores de $\dot{V}O_2$ superiores quando não estavam submetidos à manipulação da fluuabilidade, sendo ainda $\dot{V}O_2$ superior para a manipulação da fluuabilidade em que foi

adicionado peso (tratamento Peso) superior à manipulação em que foi adicionado o flutuador (tratamento Bóia) (Fig. 14).

Em geral, para *P. unifilis* foi necessário movimentar um maior volume de ar através do sistema respiratório para consumir 1 ml de O₂ ($\dot{V}_E/\dot{V}O_2$) quando comparado com *T. s. elegans*, exceto quando analisados os adultos desta espécie, quando submetidos ao tratamento Bóia. Os indivíduos juvenis da espécie *T. s. elegans* apresentaram valores muito baixos de $\dot{V}_E/\dot{V}O_2$ o que representa que este grupo possui uma maior eficiência respiratória do que os demais estudados (Fig. 15).

Comparação interespecífica

Foi estabelecida uma comparação entre os parâmetros respiratórios dos indivíduos adultos das espécies *T. s. elegans* e *P. unifilis*. Os parâmetros fR , $\dot{V}O_2$, V_T , \dot{V}_E , fE , $\dot{V}O_{2EPS}$, T_{EXP} , T_{INSP} , T_{VENT} , T_{TOT} e T_{PNV} foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) quando comparadas as duas espécies, indicando que a fisiologia respiratória varia de acordo com a espécie (Tab. 2). Apenas o V_T e $\dot{V}_E/\dot{V}O_2$ não apresentaram diferença significativa quando comparadas as diferentes espécies.

Comparação intraespecífica

Foi estabelecida uma comparação entre os parâmetros respiratórios dos indivíduos adultos e juvenis da espécie *T. s. elegans*. Quando comparados os parâmetros respiratórios, foi observado que fR , $\dot{V}O_2$, V_T , \dot{V}_E , $\dot{V}_E/\dot{V}O_2$, $\dot{V}O_{2EPS}$ e T_{TOT} e T_{PNV} foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) entre os grupos de diferentes estágios de desenvolvimento e, conseqüentemente, tamanhos diferentes (Tab. 2).

Discussão

Efeito da manipulação da flutuabilidade

Quelônios aquáticos podem ajustar o volume de ar nos pulmões para controlar o peso específico e assim regular a sua flutuabilidade (Jackson, 1969; Milsom e Chan, 1986; Milsom e Johansen, 1975). Alguns estudos sugerem que as alterações de flutuabilidade que provoquem alterações do volume pulmonar podem afetar os padrões de ventilação de quelônios, como observado para as espécies *Chrysemys picta* e *Caretta caretta* (Milsom e Chan, 1986; Milsom e Johansen, 1975). Jackson (1969) observou que, quando flutuadores e pesos foram adicionados ao casco de tartarugas da espécie *T. scripta*, os animais corrigiram a alteração da sua gravidade específica, através de alterações no volume pulmonar que variaram de 2,6-16,9 por cento do volume corpóreo total. Neste experimento o volume pulmonar foi medido através de uma pletismografia. Porém, no presente estudo, apesar das manipulações na flutuabilidade semelhantes ao que foi observado no trabalho de Jackson (1969), não foi observada variação nos parâmetros respiratórios dos grupos *T. s. elegans* adulto, *T. s. elegans* juvenil e *P. unifilis*, o que seria uma medida indireta de alterações no volume pulmonar, contrastando com os resultados de outras espécies (Milsom e Chan, 1986; Milsom e Johansen, 1975).

A frequência respiratória (fR) dos adultos da espécie *T. s. elegans* foi superior a fR dos juvenis da mesma espécie e dos *P. unifilis* adultos (Fig. 10). Este resultado pode ter sido encontrado devido a maior massa corporal desses indivíduos (*Podocnemis unifilis*: 0,74 kg (\pm 0,11); *T. s. elegans* adultos: 0,94 kg (\pm 0,15) ; *T. s. elegans* juvenis: 0,28 kg (\pm 0,06)).

O percentual de peso e de flutuadores afixados no casco dos indivíduos no presente estudo foi semelhante ao utilizado por Peterson e Gomez (2008), a pesar de terem sido estudadas diferentes espécies. O resultado atual também diverge dos resultados encontrados para as espécies *Chrysemys picta* e *Sternotherus odoratus* (Peterson e Gomez, 2008), já que os parâmetros ventilatórios não demonstraram alteração devido a manipulação da flutuabilidade, pois a variação individual é elevada. Jackson (1971) constatou que *Trachemys scripta* poderia compensar totalmente mudanças equivalente a -8% a +6% da massa corporal, a partir de 24 h após a manipulação e antes desse período, a alteração da gravidade específica era apenas parcialmente compensada. O período de

aclimação de 12 horas foi importante para permitir a compensação da compensação da alteração da gravidade específica, pois, segundo os resultados observados por Peterson e Gomez (2008) as primeiras compensações da flutuabilidades ocorrem a partir de 4 horas a manipulação experimental, porém, de acordo com Jackson (1971) este período deveria ser superior a 24 h.

Milsom e Johansen (1975) observaram a existência de uma relação linear entre o volume pulmonar e a frequência respiratória. Ou seja, quando era adicionado peso ao casco da tartaruga cabeçuda (*Caretta caretta*) e a mesma necessitava retornar a flutuabilidade neutra através da compensação da gravidade específica, o volume pulmonar aumentava e a frequência respiratória era reduzida. O mesmo foi observado por Milsom e Chan (1986), e, além disso, o aumento do volume do pulmão associado permite longos períodos de apnéia, mas para repor este estoque com um V_T relativamente menor, é necessário um maior número de respirações. Este resultado é esperado para todas as espécies de quelônios, pois com o aumento no volume pulmonar, o volume de oxigênio consumido com um ciclo ventilatório aumenta e por tanto, a frequência respiratória pode ser reduzida. Porém, o presente estudo não observou esta correlação, pois o volume pulmonar não foi mensurado diretamente.

Em um estudo realizado com *Chrysemys picta* (Milsom e Chan, 1986), foi observado que a fE era maior para a manipulação da flutuabilidade que adicionava o flutuador e era menor para a manipulação que adicionava peso, ambas comparadas a fE quando não havia manipulação da flutuabilidade. O presente estudo não observou um padrão de fE , para os grupos *T. s. elegans* adulto, *T. s. elegans* juvenil e *P. unifili* devido a variação entre os indivíduos.

Apesar de um desenho experimental semelhante aos estudos já existentes, a utilização de parâmetros respiratórios como medidas indiretas do volume pulmonar e a não mensuração da gravidade específica podem camuflar a existência de uma correlação entre alteração da flutuabilidade e volume pulmonar.

Muitas espécies de répteis apresentam episódios de respiração contínua separados por um período de apnéia (McCutcheon, 1943; Glass e Johansen, 1976; Benchetrit e Dejours, 1980; Ballam, 1984; Milsom e Chan, 1986) e este mesmo padrão foi observado para as espécies *T. s. elegans* juvenil e *P. unifilis*.

Para tartarugas marinhas, como para muitos outros répteis, a duração do período não-ventilatório (T_{PNV}) é muito maior do que o período de ventilação mecânica (T_{TOT}) (Price *et al.*, 2007) e esta mesma relação foi observa no presente estudo.

Efeito da espécie

Muitos estudos comparativos desenvolvidos por fisiologistas podem cometer quando não observadas conotações evolutivas (Burggren, 1991). Por exemplo, Burggren (1976) realizou um estudo sobre a relação entre os padrões de ventilação e frequência cardíaca em dois quelônios: a tartaruga de água doce *T. scripta* e a tartaruga terrestre *Testudo graeca*. O objetivo era contrastar os efeitos da vida terrestre e aquática na função cardiorrespiratória. Excetuando o mérito da questão fisiológica, neste estudo não foi considerada uma perspectiva da biologia evolutiva, portanto algumas falhas significativas podem ter ocorrido. No referido estudo, o autor assume que as diferenças fisiológicas refletem apenas as adaptações ao hábito aquático e ao hábito terrestre, não sendo considerado que as duas espécies filogeneticamente pertencem a linhagens que evoluíram separadas por milhões de anos (Burggren, 1991). Segundo Peterson e Gomez (2008), se duas espécies são intimamente relacionadas e ecologicamente similares o controle de fluabilidade deve ser semelhante para ambas, corroborando a hipótese da biologia evolutiva afetando os parâmetros fisiológicos.

Com o objetivo de comparar a fisiologia respiratória de indivíduos de duas espécies com hábitos e tamanhos semelhantes, apesar de filogeneticamente distantes, o presente estudo observou que a maioria dos parâmetros respiratórios foram significativamente diferentes. Visto que as duas espécies estudadas, *T. s. elegans* e *P. unifilis* são muito distantes filogeneticamente, pertencendo a subordens diferentes (Krenz *et al.*, 2005; Barley *et al.*, 2009), mais estudos sobre a fisiologia respiratória em uma perspectiva evolutiva são necessários para identificar se esta diferença foi encontrada devido a diferenças na linhagem evolutiva ou devido a diferenças individuais. A morfologia funcional pode facilitar no entendimento desta questão.

Efeito do tamanho/ estágio de desenvolvimento

Existe uma forte e estreita relação entre o tamanho do corpo e a duração do mergulho e isto foi proposto como uma regra geral para os vertebrados marinhos que respiram ar (Schreer e Kovacs, 1997; Halsey *et al.*, 2006a, 2006b). Estudos com elefantes marinhos têm sugerido que o aumento da capacidade de permanecer em apnéia aumenta de acordo com desenvolvimento, e tem sido sugerido que esse desenvolvimento é necessário para que seja ampliada a habilidade de prender a respiração de adultos (Blackwell e LeBoeuf,

1993; Castellini *et al.*, 1994). No entanto, não se espera que essa regra geral se aplique igualmente em todos os vertebrados de respiração aérea. Em um estudo realizado com filhotes de tartarugas marinhas não foi observado aumento significativo na duração da apnéia com o aumento da idade (Price *et al.*, 2007). O presente estudo observou que *T. s. elegans* adultos permanecem por mais tempo em apnéia do que os juvenis da mesma espécie corroborando a tendência geral para os vertebrados aquáticos.

Segundo Price *et al.*, (2007) fR baixas e $\dot{V}O_2$ elevados sugerem elevados V_T . Baixa frequências respiratórias são combinados com grandes volumes correntes em adultos de tartarugas marinhas (Paladino *et al.*, 1996). Para a espécie *T. s. elegans*, foi observado que a fR dos adultos também foi superior a fR dos juvenis, enquanto o $\dot{V}O_2$ foi superior nos juvenis, quando comparado ao $\dot{V}O_2$ dos adultos, não corroborando os estudos anteriores.

Vertebrados aquáticos que respiram ar tendem a ter grandes V_T quando comparados ao seu tamanho, e esta característica facilita uma rápida troca gasosa, quando chegam a superfície, permitindo que retornem rapidamente ao mergulho (Kooyman, 1973; Lutz e Bentley, 1985; Jackson, 1985). O V_T dos adultos foi superior ao V_T observados para os juvenis sugerindo que com o desenvolvimento o V_T também aumenta, permitindo que os adultos realizem trocas gasosas mais rápidas que os juvenis. .

Segundo Boyer (1963) existe uma dificuldade de identificar uma correlação clara entre a respiração e o tamanho em tartarugas. Porém, no presente estudo foi possível observar que o tamanho/estágio de desenvolvimento de indivíduos das mesmas espécies exerce um efeito significativo nos parâmetros respiratórios.

Agradecimentos

Agradecemos A. S. Abe pela disponibilização de material e local para realização dos experimentos e ao Programa de Apoio à Pós-graduação, pelo auxílio financeiro para realização deste estudo.

Referências bibliográficas

- Ballam, G. O.** (1984). Ventilatory response to inspired CO₂ in the lizard, *Tupinambis mgropunctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.* **78A**, 757-762.
- Barley, A.J., Spinks, P.Q., Thomson, R.C. e Shaffer, H.C.,** (2009) Fourteen nuclear genes provide phylogenetic resolution for difficult nodes in the turtle tree of life. *Mol. Phylogenet. Evol.* **55**: 1189–1194
- Belkin, D. A.** (1963) Anoxia: Tolerance in Reptiles. *Science*. **139**, 3554:492-493
Benchetrit e Dejours, 1980;
- Blackwell, S. B. e Le Boeuf, B. J.** (1993). Developmental aspects of sleep apnea in northern elephant seals, *Mirounga angustirostris*. *J. Zool., Lond.* **231**, 437–447.
- Boyd, I. L.** (1997). The behavioural and physiological ecology of diving. *Trends Ecol. Evol.* **12**, 213-217.
- Boyer, D. R.** (1963) Hypoxia: Effects on Heart Rate and Respiration in the Snapping Turtle. *Science*, Vol. **140**.
- Brischoux, F., Bonnet, X., Cook, T. R. e Shine, R.** (2008). Allometry of diving capacities: ectothermy vs. endothermy. *J. Evol. Biol.* **21**:324–329.
- Burggren, W. W.** (1976) A quantitative analysis of ventilation tachycardia and its control in two chelonians, *Pseudemys scripta* and *Testudo graeca*. *Journal of Experimental Biology.* **63**, 367-80
- Burggren, W. W.** (1991) Does comparative respiratory physiology have a role in evolutionary biology (and vice versa)? In *A. J. Woakes, M. K. Grieshaber, and C. R. Bridges (eds.)*, Comparative insights into strategies for gas exchange and metabolism, pp. 1-13. Cambridge University Press, New York.
- Castellini, M.A., Rea, L.D., Sanders, J.L., Castellini, J.M. e Zenteno-Savin, T.,** (1994) Developmental changes in cardiorespiratory patterns of sleep-associated apnea in northern elephant seals. *Am. J. Physiol.* **267**, 1294-1301.
- Gans, C. and Clark, B.** (1976). Studies on ventilation of *Caimanocrocodilus* (Crocodylia: Reptilia). *Respir. Physiol.* **26**, 285–301.
- Gans, C. e Hughes, G. M.** (1967). The mechanism of lung ventilation in the tortoise *Testudo graeca* Linne. *J. Exp. Biol.* **47**, 1-20.
- Glass, M. e Johansen, K.** (1976). Control of breathing in *Acrochordus javanicus*, an aquatic snake. *Physiol. Zool.* **49**, 328-340.

Gordos, M. A., Franklin, C. E. e Limpus, C. J. (2004) Effect of water depth and water velocity upon the surfacing frequency of the bimodally respiring freshwater turtle, *Rheodytes leukops*. *Journal of Experimental Biology* **207**:3099–3107.

Gordos, M., e Franklin, C. E. (2002). Diving behavior of two Australian bimodally respiring turtles, *Rheodytes leukops* and *Emydura macquarii*, in a natural setting. *Journal of Zoology*. **258**:335–342.

Halsey, L.G., Blackburn, T.M. e Butler, P.J. (2006a).A comparative analysis of the diving behaviour of birds and mammals. *Funct. Ecol.* **20**: 889–899.

Halsey, L.G., Butler, P.J.e Blackburn, T. M. (2006b).A phylogenetic analysis of the allometry of diving. *Am. Nat.* **167**: 276–287.

Iverson, 1984;

Iverson, J. B. (1984). Proportional skeletal mass in turtles. *Florida Scientist* **47**:1–11

Jackson, D. C. (1969).Buoyancy control in the freshwater turtle, *Pseudemys scripta elegans*. *Science* **166**: 1649–1651.

Jackson, D. C. (1971). Mechanical basis for lung volume variability in the turtle *Pseudemys scripta elegans*. *American Journal of Physiology* **220**:754–758.

Jackson, D. C. (2000). How a turtle's shell helps it survive prolonged anoxic acidosis. *News in Physiological Science* **15**:181–185

Kooyman, G. L. (1973) Gas exchange in penguins during simulated dives to 30 and 68 m. *Am. J. Physiol.* **225**: 1467-1471.

Krenz, J.G., Naylor, G.J.P., Shaffer, H.B., Janzen, F.J., (2005) Molecular phylogenetics and evolution of turtles. *Mol. Phylogenet. Evol.* **37**, 178–191.

Lutz, P.L. e Bentley, T. B. (1985) Respiratory physiology of diving in the sea turtle. *Copeia* 1980 (3) : 671-679.

Marvin, G. A., e Lutterschmidt, W. I. (1997). Locomotor performance in juvenile and adult box turtles (*Terrapene carolina*): A reanalysis for effects of body size and extrinsic load using a terrestrial species. *Journal of Herpetology* **31**:582–586.

McCutcheon, F. H. (1943) The respiratory mechanism in turtles. *Physiol. Zool.* **16**, 255-269

Miller, K., e Birchard, G. F. (2005). Influence of body size on shell mass in the ornate box turtle, *Terrapene ornata*. *Journal of Herpetology* **39**:158–161.

Milsom, W. K. (1975). Development of buoyancy control in juvenile Atlantic loggerhead turtles, *Caretta caretta*. *Copeia* **1975**:758–762.

- Milsom, W. K.** (1991) Intermittent breathing in vertebrates. *Annu. Rev. Physiol.* **53**:87-105.
- Milsom, W. K., Chan, P.** (1986). The relationship between lung volume, respiratory drive and breathing pattern in the turtle, *Chrysemys picta*. *J. Exp. Bio.* **120**:233-47
- Milsom, W.K., Johansen, K.** (1975). The effect of buoyancy induced lung volume changes on respiratory frequency in a Chelonian (*Caretta caretta*). *Journal of Comparative Physiology* **98**, 157–160.
- Minamikawa, S., Naito Y., e Uchida, I.** (1997). Buoyancy control in diving behavior of the loggerhead turtle, *Caretta caretta*. *Journal of Ethology* **15**:109–118
- Naifeh K.H., Huggins S.E., Hoff H.E., Hugg T.W. e Norton R.E.** (1970) Respiratory patterns in crocodylian reptiles. *Respir.Physiol.* **9**, 31-42.
- Paladino, F. V., Spotila, J. R., O'Connor, M. P. e Gatten, R. E.** (1996). Respiratory physiology of adult leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) while nesting on land. *Chel. Cons. Biol.* **2**, 223– 229.
- Pelster, B.** (2009). Buoyancy Control in Aquatic Vertebrates. In: *Glass, M.L. and Wood, S.C. (eds.), Cardio-Respiratory Control in Vertebrates.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Peterson, C. C e Gomez, D.** (2008). Buoyancy regulation in two species of freshwater turtle. *Herpetologica* **64(2)**: 141-148
- Pough, F.H.** (1980) The advantages of ectothermy for tetrapods. *Am. Nat.* **115**: 92–112.
- Price, E. R., Paladino, F. V., Strohl, K. P., Santidrián T. P. Klann, K. e Spotila J. R.** (2007) Respiration in neonate sea turtles. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A **146**:422–428
- Schmidt-Nielsen, K.** 1990. *Animal Physiology: Adaptation and Environment*, 4th Ed. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Schreer, J.F., Kovacs, K.M.,** (1997). Allometry of diving capacity in air-breathing vertebrates. *Can. J. Zool.* **75**, 339–358.
- Shelton, G. e Boutilier, R.G** (1982) . Apnoea in Amphibians and Reptiles. *J Exp Biol* **100**, 245-273.
- Taylor, M. A.** (1994). Stone, bone, or blubber? Buoyancy control strategies in aquatic tetrapods. Pp. 151–161. In *L. Maddock, Q. Bone, and J. M. V. Rayner (Eds.), Mechanics and Physiology of Animal Swimming.* Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

Vitalis T. Z. e Milsom W. K. (1986a) Pulmonary mechanics and the work of breathing in the semi-aquatic turtle, *Pseudemys scripta*. *J.Exp.Biol.* **125**, 137-155.

Vitalis T. Z. e Milsom W. K. (1986b) Mechanical analysis of the spontaneous breathing in the semi-aquatic turtle, *Pseudemys scripta*. *J.Exp.Biol.* **125**, 157-171.

Wang e Warburton (1995)

Zani, P. A., e Claussen, D. L.(1994). Voluntary and forced terrestrial locomotion in juvenile and adult painted turtles, *Chrysemys picta*. *Copeia* **1994**:466–471.

Zug, G. R. (1971). Buoyancy, locomotion, morphology of the pelvic girdle and hindlimb, and systematics of Cryptodiran turtles. *Misc Publ Mus Zool Univer Mich* **142**, 1–90

Lista de figuras e tabelas

Tabelas

Grupo analisado	<i>Controle x Bóia</i>			<i>Controle x Peso</i>			
	Variável	Diferença	t	Valor de P	Diferença	t	Valor de P
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	T _{EXP}	0,3733	1,673	P > 0,05	0,4413	1,977	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	T _{INSP}	0,1404	1,12	P > 0,05	0,4129	3,295	P < 0,01
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	T _{VENT}	0,5134	1,715	P > 0,05	0,8539	2,852	P < 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	T _{TOT}	2,674	1,507	P > 0,05	1,408	0,7935	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	T _{PNV}	-2,676	1,508	P > 0,05	-1,41	0,7945	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	f _R	0,558	0,3838	P > 0,05	-0,4607	0,3168	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	f _E	0,09777	0,3668	P > 0,05	0,3134	1,176	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	V _T	0,04187	0,03864	P > 0,05	2,234	2,061	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	$\dot{V}O_{2EPS}$	0,06891	1,026	P > 0,05	-0,05496	0,8183	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	V _{bO₂}	0,6133	1,825	P > 0,05	0,1715	0,5105	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	$\dot{V}O_2$	2,755	2,544	P > 0,05	-0,2341	0,2162	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	\dot{V}_E	2,533	0,4007	P > 0,05	7,008	1,109	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (juvenil)	$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	-0,3085	0,2249	P > 0,05	1,247	0,9093	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	T _{EXP}	-0,1382	0,562	P > 0,05	0,3201	1,485	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	T _{INSP}	0,0269	0,1949	P > 0,05	0,07963	0,6578	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	T _{VENT}	-0,1105	0,3351	P > 0,05	0,3999	1,382	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	T _{TOT}	-1,54	0,7877	P > 0,05	-2,591	1,511	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	T _{PNV}	1,536	0,7858	P > 0,05	2,588	1,509	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	f _R	-1,231	0,7687	P > 0,05	-2,841	2,022	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	f _E	-0,4344	1,479	P > 0,05	-0,2469	0,9586	P > 0,05

<i>T. s. elegans</i> (adulto)	V_T	2,978	2,495	P < 0,05	1,277	1,22	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	$\dot{V}O_{2EPS}$	0,01553	0,2098	P > 0,05	0,02325	0,3583	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	V_bO_2	-0,049	0,1324	P > 0,05	0,3142	0,9681	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	$\dot{V}O_2$	-0,4098	0,3435	P > 0,05	-0,1933	0,1847	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	\dot{V}_E	<u>18,25</u>	<u>2,621</u>	<u>P < 0,05</u>	-3,882	0,6356	P > 0,05
<i>T. s. elegans</i> (adulto)	$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	<u>5,232</u>	<u>3,462</u>	<u>P < 0,01</u>	0,7532	0,5684	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	T_{EXP}	-0,3231	1,518	P > 0,05	-0,21	0,9863	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	T_{INSP}	-0,0955	1,038	P > 0,05	-0,0245	0,2662	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	T_{VENT}	-0,4187	1,568	P > 0,05	-0,2346	0,8787	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	T_{TOT}	-0,6412	0,4622	P > 0,05	0,64	0,4613	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	T_{PNV}	0,6412	0,4623	P > 0,05	-0,6413	0,4623	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	fR	-0,2875	0,2149	P > 0,05	0,8063	0,6026	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	fE	0,05313	0,259	P > 0,05	0,04688	0,2285	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	V_T	-1,258	1,246	P > 0,05	-0,3604	0,3568	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	$\dot{V}O_{2EPS}$	<u>-0,5415</u>	<u>2,926</u>	<u>P < 0,05</u>	-0,2616	1,414	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	V_bO_2	<u>-1,028</u>	<u>2,521</u>	<u>P < 0,05</u>	-0,8504	2,086	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	$\dot{V}O_2$	-1,545	1,709	P > 0,05	-0,7076	0,7828	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	\dot{V}_E	-5,717	0,9642	P > 0,05	0,8938	0,1507	P > 0,05
<i>P. unifilis</i>	$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	-2,324	0,622	P > 0,05	-1,069	0,286	P > 0,05

Tabela 2: Resultados teste de Bonferroni demonstrando se há diferença entre os parâmetros ventilatórios quando comparados os tratamentos com o controle. Ver texto com abreviaturas. Análises foram consideradas significativas para $P < 0,05$, desde que estas mesmas variáveis tivessem sido consideradas significativamente diferentes em relação ao efeito do tratamento, na análise de variância. Portanto, apenas os valores em negrito devem ser considerados significativos e os valores de $P < 0,05$ sublinhados devem ser ignorados

Parâmetro respiratório	Fonte de variação	Valor de P
T_{EXP}	Espécies	0,0006
T_{INSP}	Espécies	0,0004
T_{VENT}	Espécies	< 0,0001
T_{TOT}	Espécies	< 0,0001
T_{PNV}	Espécies	< 0,0001
fR	Espécies	0,0001
fE	Espécies	< 0,0001
V_T	Espécies	0,1071
$\dot{V}O_{2EPS}$	Espécies	0,0019
V_bO_2	Espécies	0,2980
$\dot{V}O_2$	Espécies	< 0,0001
\dot{V}_E	Espécies	< 0,0001
$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	Espécies	0,6265
T_{EXP}	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,6713
T_{INSP}	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,8344
T_{VENT}	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,6862
T_{TOT}	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0278
T_{PNV}	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0277
fR	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0125
fE	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0626
V_T	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0103
$\dot{V}O_{2EPS}$	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0001
V_bO_2	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	< 0,0001
$\dot{V}O_2$	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	0,0037
\dot{V}_E	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	< 0,0001
$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	Tamanho/ estágio de desenvolvimento	< 0,0001

Tabela 2: Resultados da ANOVA TWO WAY demonstrando se há diferença entre os parâmetros ventilatórios quando comparados entre *T. s. elegans* juvenil (N=8) e *T. s. elegans* adulto (N=8); *T. s. elegans* adulto (N=8) e *P. unifilis* adulto (N=8). Ver texto com abreviaturas. Análises foram consideradas significativas para $P < 0,05$.

Abreviaturas utilizadas e suas unidades

Abreviatura		Unidades
T_{EXP}	Duração média da expiração	Segundos
T_{INSP}	Duração média da inspiração	Segundos
T_{VENT}	Duração média de uma ventilação (soma de expiração e inspiração)	Segundos
T_{TOT}	Duração total dos movimentos respiratórios	Minutos
T_{PNV}	Duração total do período não ventilatório	Minutos
f_R	Frequência respiratória	Respirações*minuto ⁻¹
f_E	Frequência dos episódios	Episódios*minuto ⁻¹
V_T	Volume corrente, calculado com a média de volume de ar expirado padronizado pelo peso	ml*kg ⁻¹
$\dot{V}O_{2EPS}$	Volume de oxigênio consumido por episódio ventilatório	ml de O ₂ *min ⁻¹ *kg
$V_b O_2$	Consumo de oxigênio por respiração padronizado pelo peso	mlO ₂ *kg ⁻¹
$\dot{V}O_2$	Volume de oxigênio consumido por minuto padronizado pelo peso do animal	ml de O ₂ *min ⁻¹ *kg ⁻¹
\dot{V}_E	Volume de ar expirado pelo animal durante um minuto padronizado pelo peso	ml*kg ⁻¹ *min ⁻¹
$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	Volume de ar movimentado através do sistema respiratório em relação ao volume de O ₂ consumido padronizado pelo animal	ml de ar* ml de O ₂ ⁻¹

Dados

Espécies	Tratamento	Indivíduo	Massa (kg)	nº de episódios	fR	$\dot{V}O_2$	V_T	\dot{V}_E	$\dot{V}_E/\dot{V}O_2$	V_bO_2	fE	$\dot{V}O_{2EPS}$	T_{EXP}	T_{INSP}	T_{VENT}
<i>P. unifilis</i>	Bóia	1	0,83	5	1,88	0,96	3,52	6,60	6,86	0,51	0,125	0,19	0,94	0,50	1,44
<i>P. unifilis</i>	Bóia	2	0,63	5	1,43	0,98	0,84	1,20	1,22	0,69	0,125	0,20	0,92	0,45	1,37
<i>P. unifilis</i>	Bóia	3	0,62	8	1,88	1,54	3,13	5,87	3,81	0,82	0,2	0,19	1,09	0,54	1,63
<i>P. unifilis</i>	Bóia	4	0,83	18	3,28	1,90	3,80	12,45	6,57	0,58	0,45	0,11	1,27	0,74	2,01
<i>P. unifilis</i>	Bóia	5	0,85	5	2,10	0,75	4,76	10,01	13,28	0,36	0,125	0,15	0,86	0,45	1,31
<i>P. unifilis</i>	Bóia	6	0,63	4	3,33	1,68	3,33	11,07	6,60	0,50	0,1	0,42	0,85	0,54	1,40
<i>P. unifilis</i>	Bóia	7	0,85	2	0,33	0,57	3,94	1,28	2,25	1,75	0,05	0,28	1,17	0,75	1,92
<i>P. unifilis</i>	Bóia	8	0,69	3	2,35	0,79	5,36	12,59	15,96	0,34	0,075	0,26	0,78	0,48	1,26
<i>P. unifilis</i>	Controle	1	0,83	4	1,73	2,65	2,56	4,41	1,67	1,54	0,1	0,66	1,73	0,49	2,22
<i>P. unifilis</i>	Controle	2	0,63	5	1,38	6,70	3,87	5,32	0,79	4,87	0,125	1,34	2,47	0,69	3,16
<i>P. unifilis</i>	Controle	3	0,62	5	1,85	1,58	2,61	4,83	3,06	0,85	0,125	0,32	0,93	0,51	1,44
<i>P. unifilis</i>	Controle	4	0,83	6	2,20	0,96	5,80	12,76	13,33	0,43	0,15	0,16	0,96	0,50	1,45
<i>P. unifilis</i>	Controle	5	0,85	3	5,00	0,86	7,54	37,71	44,02	0,17	0,075	0,29	1,12	0,70	1,83
<i>P. unifilis</i>	Controle	6	0,63	5	3,13	2,87	6,54	20,44	7,13	0,92	0,125	0,57	1,13	0,50	1,63
<i>P. unifilis</i>	Controle	7	0,85	3	0,28	0,96	3,68	1,01	1,06	3,49	0,075	0,32	1,34	1,16	2,49
<i>P. unifilis</i>	Controle	8	0,69	2	3,30	4,96	6,16	20,32	4,09	1,50	0,05	2,48	0,79	0,68	1,47
<i>P. unifilis</i>	Peso	1	0,83	3	5,35	1,89	3,83	20,48	10,83	0,35	0,075	0,63	0,81	0,53	1,35
<i>P. unifilis</i>	Peso	2	0,63	7	1,15	2,77	5,66	6,50	2,35	2,41	0,175	0,40	2,23	0,90	3,13
<i>P. unifilis</i>	Peso	3	0,62	2	1,00	0,89	2,54	2,54	2,87	0,89	0,05	0,44	0,86	0,47	1,33
<i>P. unifilis</i>	Peso	4	0,83	12	6,20	2,00	5,16	31,99	15,98	0,32	0,3	0,17	1,09	0,74	1,83
<i>P. unifilis</i>	Peso	5	0,85	5	2,83	0,74	4,82	13,62	18,36	0,26	0,125	0,15	0,75	0,57	1,32
<i>P. unifilis</i>	Peso	6	0,63	2	2,33	1,93	5,11	11,89	6,16	0,83	0,05	0,97	0,99	0,54	1,53

<i>P. unifilis</i>	Peso	7	0,85	15	2,60	3,53	5,41	14,06	3,98	1,36	0,375	0,24	1,21	0,69	1,90
<i>P. unifilis</i>	Peso	8	0,69	2	3,85	2,12	3,34	12,85	6,07	0,55	0,05	1,06	0,85	0,59	1,44
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Bóia	1	1,13	31	6,15	3,08	6,89	42,39	13,78	0,50	0,775	0,10	1,38	0,97	2,34
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Bóia	3	1,03	37	8,23	6,33	8,93	73,41	11,61	0,77	0,925	0,17	1,40	0,82	2,21
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Bóia	4	1,13	28	6,03	3,26	7,18	43,27	13,26	0,54	0,7	0,12	1,51	0,94	2,44
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Bóia	7	0,88	30	5,80	4,43	4,12	23,88	5,39	0,76	0,75	0,15	1,16	0,64	1,80
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Bóia	8	0,75	34	4,18	3,82	7,25	30,25	7,91	0,92	0,85	0,11	1,64	0,75	2,39
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	1	1,13	44	5,98	2,94	2,09	12,51	4,26	0,49	1,1	0,07	1,32	0,70	2,02
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	2	0,86	25	4,20	4,23	11,15	46,82	11,08	1,01	0,625	0,17	1,70	0,63	2,34
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	3	1,03	15	2,05	2,26	3,96	8,12	3,60	1,10	0,375	0,15	1,90	0,70	2,60
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	4	1,13	26	4,63	2,77	1,47	6,78	2,45	0,60	0,65	0,11	1,78	1,30	3,08
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	5	0,89	84	6,98	3,58	2,29	15,95	4,46	0,51	2,1	0,04	1,81	0,75	2,55
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	6	0,79	85	9,03	5,37	3,47	31,34	5,84	0,59	2,125	0,06	1,63	1,01	2,64
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	7	0,88	78	19,20	7,39	2,38	45,77	6,19	0,38	1,95	0,09	0,91	0,56	1,47
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Controle	8	0,75	38	6,40	8,23	4,35	27,83	3,38	1,29	0,95	0,22	1,38	0,70	2,08
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	1	1,13	33	5,63	3,05	3,24	18,23	5,98	0,54	0,825	0,09	1,53	0,76	2,29
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	2	0,86	35	3,08	3,37	3,92	12,04	3,57	1,10	0,875	0,10	1,94	0,95	2,89
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	3	1,03	22	1,88	3,41	8,71	16,34	4,79	1,82	0,55	0,15	2,49	0,72	3,21
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	4	1,13	21	4,90	2,14	7,05	34,53	16,15	0,44	0,525	0,10	1,76	1,01	2,77
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	5	0,89	54	2,90	3,12	5,34	15,48	4,96	1,08	1,35	0,06	2,02	1,10	3,12
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	6	0,79	33	9,05	10,34	2,49	22,53	2,18	1,14	0,825	0,31	1,20	0,71	1,92
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	7	0,88	95	4,40	4,36	6,89	30,31	6,96	0,99	2,375	0,05	2,80	1,10	3,90
<i>T. s. elegans (adulto)</i>	Peso	8	0,75	23	3,90	5,41	3,74	14,60	2,70	1,39	0,575	0,24	1,25	0,64	1,89
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	1	0,21	17	1,58	4,62	4,36	6,86	1,48	2,94	0,425	0,27	1,75	0,93	2,68
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	2	0,35	58	8,38	10,74	3,45	28,87	2,69	1,28	1,45	0,19	1,17	0,76	1,93
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	3	0,25	15	3,93	9,08	0,98	3,84	0,42	2,31	0,375	0,61	1,53	0,51	2,05
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	4	0,23	26	5,80	10,28	3,70	21,45	2,09	1,77	0,65	0,40	1,67	0,87	2,54
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	5	0,38	25	5,68	11,53	2,77	15,72	1,36	2,03	0,625	0,46	1,77	0,68	2,45
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	6	0,23	27	2,80	5,93	2,07	5,81	0,98	2,12	0,675	0,22	1,85	0,67	2,52

<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	7	0,29	31	3,95	6,94	2,39	9,44	1,36	1,76	0,775	0,22	1,07	0,86	1,93
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Bóia	8	0,26	14	1,65	7,19	3,22	5,31	0,74	4,36	0,35	0,51	2,47	0,89	3,35
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	1	0,21	16	2,35	5,55	2,56	6,02	1,08	2,36	0,4	0,35	1,23	0,51	1,74
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	2	0,35	26	7,00	2,83	0,94	6,57	2,32	0,40	0,65	0,11	1,03	0,60	1,63
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	3	0,25	37	4,38	9,15	3,47	15,17	1,66	2,09	0,925	0,25	1,44	0,72	2,15
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	4	0,23	17	2,58	4,21	0,71	1,83	0,44	1,63	0,425	0,25	1,26	0,67	1,93
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	5	0,38	11	3,18	4,77	2,07	6,58	1,38	1,50	0,275	0,43	1,01	0,46	1,48
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	6	0,23	41	3,28	6,93	6,04	19,80	2,86	2,12	1,025	0,17	1,77	0,89	2,67
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Controle	8	0,26	11	2,88	5,30	3,98	11,44	2,16	1,84	0,275	0,48	1,26	0,56	1,82
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	1	0,21	17	1,63	5,76	6,96	11,31	1,96	3,54	0,425	0,34	1,81	1,00	2,81
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	2	0,35	39	6,18	6,97	7,63	47,13	6,77	1,13	0,975	0,18	1,85	0,99	2,83
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	3	0,25	40	2,65	5,64	4,21	11,16	1,98	2,13	1	0,14	2,31	0,83	3,13
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	4	0,23	15	3,68	3,12	1,55	5,71	1,83	0,85	0,375	0,21	0,90	0,57	1,47
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	5	0,38	39	2,95	5,87	5,65	16,66	2,84	1,99	0,975	0,15	1,67	1,55	3,22
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	6	0,23	47	2,60	6,01	5,77	15,00	2,49	2,31	1,175	0,13	2,49	1,12	3,61
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	7	0,29	79	3,45	4,97	4,73	16,32	3,28	1,44	1,975	0,06	1,84	1,73	3,56
<i>T. s. elegans (juvenil)</i>	Peso	8	0,26	6	2,48	4,06	3,96	9,81	2,42	1,64	0,15	0,68	0,96	0,56	1,53

Figuras

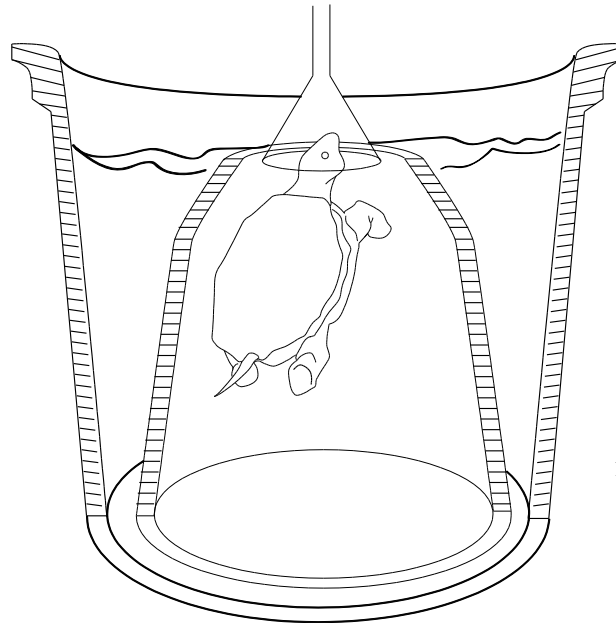


Fig. 1. Ilustração indicando o sistema montado para a realização do experimento.

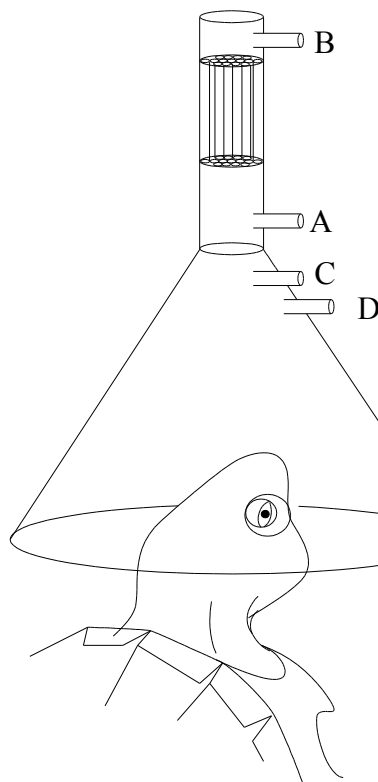
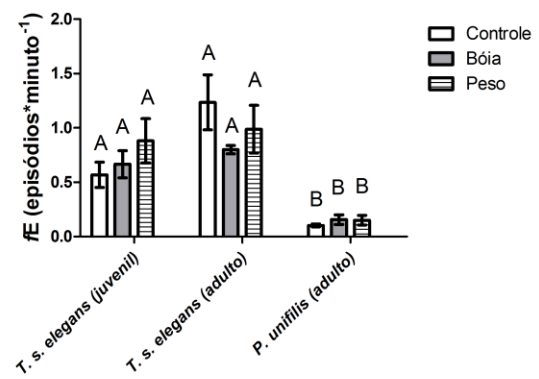
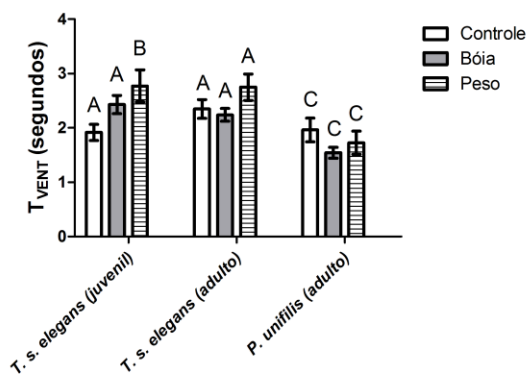
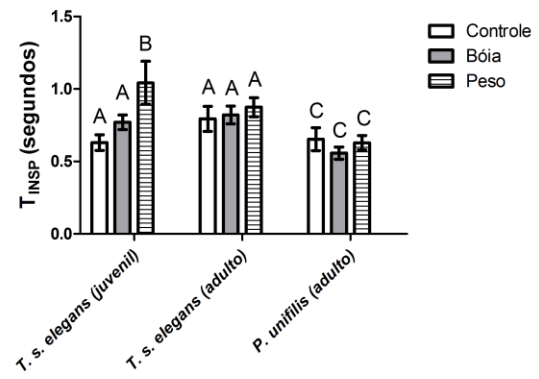
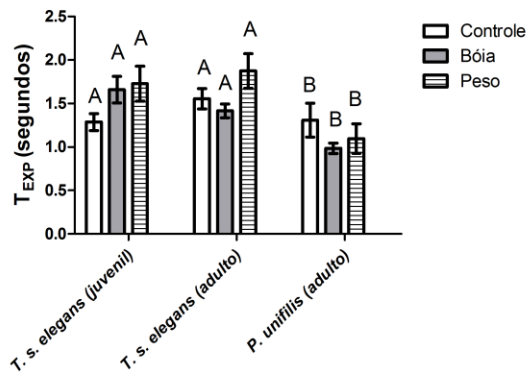
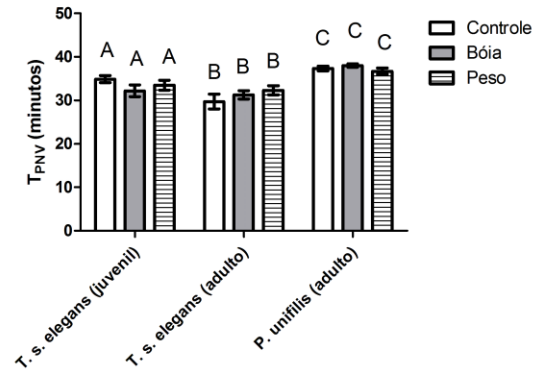
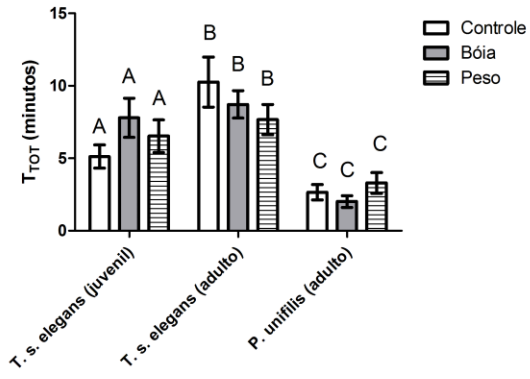
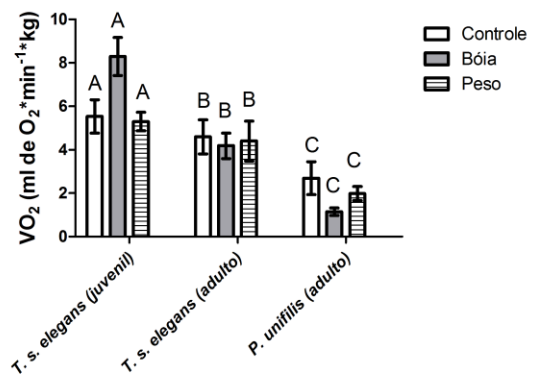
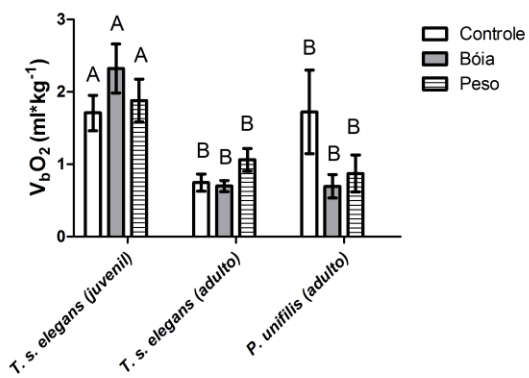
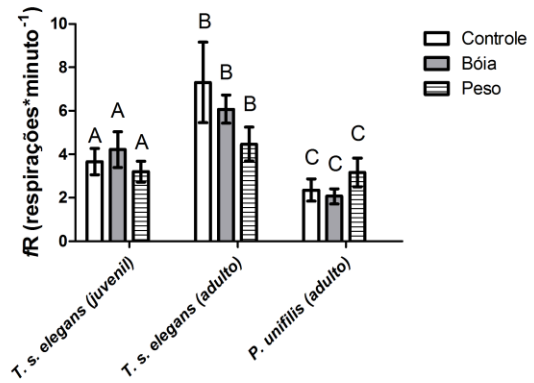
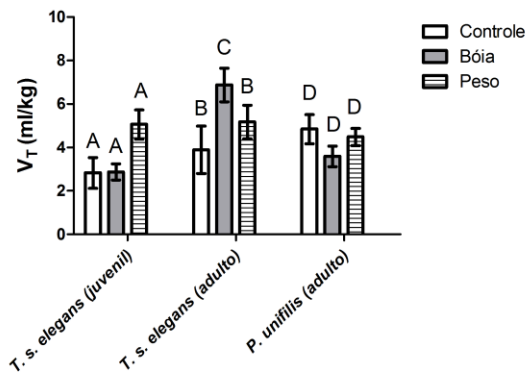
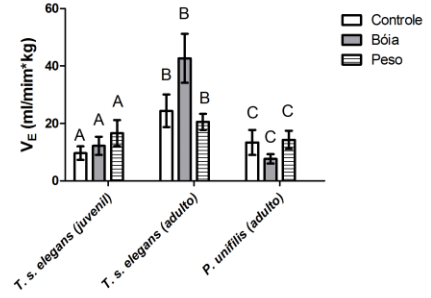
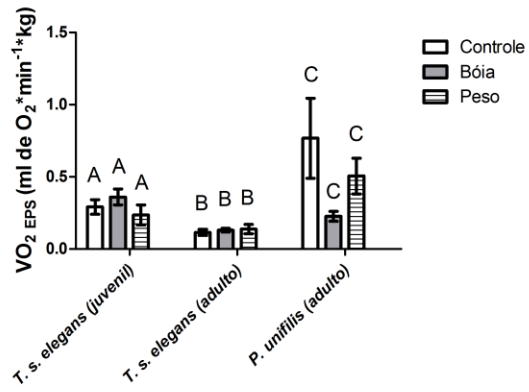


Fig. 2. Estrutura do funil utilizado. A e B: conexões para o transdutor de pressão, C: conexão para o analisador de O_2 , D: conexão para calibração do funil.





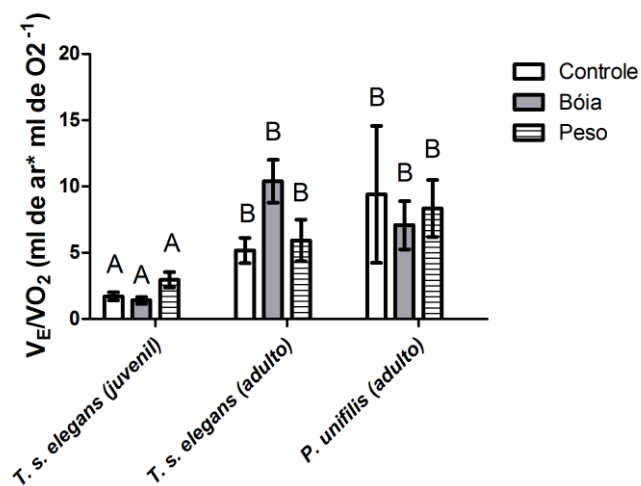


Figura 3 – 15: Parâmetros ventilatórios de *T. s. elegans* juvenil (N=8), *T. s. elegans* adulto (N=8) e *P. unifilis* adulto (N=8). Ver texto com abreviaturas. Dados são representados pelas médias \pm erro padrão. tratamentos com letras iguais não diferem significativamente ao nível de 0,05.

Conclusões finais

- O presente trabalho descreve importantes parâmetros da fisiologia respiratória de *Trachemys scripta elegans* e *Podocnemis unifilis*.
- Foi possível observar que o tamanho/estágio de desenvolvimento de indivíduos da espécie *T. s. elegans* exerce um efeito significativo nos parâmetros respiratórios.
- Estudos sobre a fisiologia respiratória em uma perspectiva evolutiva são necessários para identificar se as diferenças nos padrão se devem a diferenças nas linhagens evolutivas ou refletem apenas diferenças individuais.
- As manipulações na fluutuabilidade não exerceram variação nos parâmetros respiratórios dos grupos *T. s. elegans* adulto, *T. s. elegans* juvenil e *P. unifilis*.
- Estudos com a finalidade de observar alterações nos parâmetros respiratórios de quelônios devem ser realizados através de medições diretas do volume pulmonar.

Anexo

Normas para submissão de manuscrito na *The Journal of Experimental Biology*

About The Journal of Experimental Biology

Aims and scope

The Journal of Experimental Biology (JEB) is the leading journal in comparative animal physiology and is published by The Company of Biologists, a not-for-profit charitable organization run by biologists for the benefit of the biological community.

From its launch as The British Journal of Experimental Biology in 1923 to the present day, JEB continues to publish papers on the form and function of living organisms at all levels of biological organisation, from the molecular and subcellular to the integrated whole animal. Our authors and readers reflect a broad interdisciplinary group of scientists who study molecular, cellular and organismal physiology in an evolutionary and environmental context. JEB receives many more manuscripts than it can publish.

In recent years, the number of published manuscripts constitutes only about 40% of those submitted.

The single most important criterion for publication in JEB is significant advancement of scientific knowledge. In general, this means that a manuscript should pose and test a significant hypothesis or answer an important question that is relevant to basic issues of experimental biology. Manuscripts should be of general importance to the field of comparative physiology and be of interest to the broad readership of JEB. The journal does not have room for descriptive papers that do not make clear their broader mechanistic and scientific relevance. Only under compelling circumstances will an Editor decide that an exception to this guideline is warranted.

What JEB offers

- Editorial decisions made by expert academic editors
- Impact factor of 2.722 for 2009 (the average IF over 5 years is 3.254)
- Fast publication, online and in print
- No page charges
- Free colour reproduction
- Online archive back to 1923
- Articles freely available six months after publication
- Open Access publication option
- Free electronic reprints
- Deposition of manuscripts to PubMed Central for authors whose funding providers mandate deposition
- Wide international circulation
- High-quality, in-house printing

JEB online

All JEB's content - including the entire archive dating back to 1923 - is available online and is fully browsable and searchable. All JEB papers are freely available online six months after publication, and authors may choose to make their articles [Open Access](#) by paying a subsidized fee. Special review volumes of JEB are always freely available online from the time of publication. In addition, JEB deposits manuscripts in PubMed Central for those authors whose funding providers mandate deposition.

JEB is also a participant of the [LOCKSS project](#), an international community initiative through which libraries and publishers work together to preserve their digital content for the long-term.

Supporting the community

JEB is a community journal that strives to support the members and the research of the comparative physiology community. For example, JEB supports younger researchers through its [Travelling Fellowships](#) programme, through which it offers up to £2500 to graduate students and post-docs who wish to make collaborative visits to other laboratories. [The Company of Biologists](#), the publisher of JEB, is also a generous financial supporter of the [Society for Experimental Biology](#) and sponsors numerous meetings and workshops in the field through its travel and meeting [grants](#). JEB also funds and hosts its own [annual symposium](#) - these themed meetings unite outstanding biologists and bring together their varied expertise on one particular subject, culminating in the publication of an annual [review volume](#) of the journal.

Publishing in JEB is free of any charges, and authors are provided with free electronic reprints of their papers. All of JEB's content is also freely available to community members in developing countries through the [HINARI](#) initiative.

Preparation of manuscripts for submission

Authors should read JEB's [editorial policies](#) and [publishing ethics](#) before preparing their manuscripts.

[Click here](#) for further information on specific article types.

JEB requires authors to submit their articles [online](#).

For **new submissions**, we recommend that you submit your paper as a single PDF file that contains all the necessary text, figures and tables. However, if your manuscript contains figures that you wish reviewers to view at high resolution, please submit individual text and figure files (see our [figure preparation](#) guidelines for more information).

For **revised submissions** and **accepted manuscripts**, you are required to provide all source text and figure files. **Please note that revised manuscripts will be treated as a new submission if they are not submitted within 3 months of the date of the initial decision.**

File formats

For manuscript text and tables, our preferred file format is Microsoft Word (.doc) (**MS Office 2007 Users:** please save documents as Word 97-2003 format). We do not accept LaTeX files. Please provide tables in a separate file to the text. (Note that, as stated above, at initial submission you may submit a single PDF file containing all text and figures.)

General information

- (1) Prepare manuscripts in English.
- (2) Supply a short title of not more than 40 characters and at least three keywords for indexing.
- (3) Do not insert any figures into the manuscript document.
- (4) Do not use picture boxes in text to create special characters.
- (5) Fonts: use Times for normal characters and Symbol for Greek characters.
- (6) Please give Latin names and taxonomic authority (e.g. Linnaeus) for the experimental species.
- (7) Please provide names and locations (town, state, country) of ALL equipment suppliers.
- (8) Please provide a list of symbols/abbreviations used.
- (9) Please provide information on all financial and material support of your research (including grant funding) in the Acknowledgements.

Manuscript length

The following table shows the maximum word count of the main text (excluding title page, summary, references and figure captions) for different article types.

Article type	Maximum word count
Research Article	8000
Methods & Techniques	2500
Review	8000
Commentary	4500

Articles exceeding the maximum word count will be returned to authors at submission unless justification for the increased manuscript length has been included in the cover letter.

Summary

Provide a brief summary of no more than 250 words. Do not include references.

Preparing the text

- (1) Use 1.5 line spacing for all text and include line numbers.
- (2) Italicize Latin words.
- (3) Use SI units only.
- (4) Abbreviations should be defined the first time they are used in text – uppercase should be typed without stops (USA, UK); lowercase with stops (u.v.)
- (5) Type a space between a digit and a unit e.g. 1 mm (except 1%, 4°C).
- (6) Use relative molecular mass (M_r) and not MW. M_r is dimensionless and should be expressed as $\times 10^3$.

- (7) kDa is acceptable for molecular mass.
- (8) Use s.e.m. and s.d. for standard errors, etc.
- (9) Ions – use Ca²⁺, etc.
- (10) Isotopically labelled compounds – if isotope is of an element in the compound then place symbol for the isotope in square brackets, as in [³H]thymidine; if compound does not normally contain the isotopically labelled element then use either ¹³¹I-labelled albumin or ¹³¹I-albumin.
- (11) Cite each figure and table in the text in numerical order.
- (12) Use Fig. 6A,B or Figs 8, 9.
- (13) Do not include units in equations but define them in the text.

Preparing mathematical equations

Users of MS Word 2007/2008: Please submit in docx format, as saving to MS Word 97-2003 format renders mathematical data as images that cannot be edited.

Display equations: Please number all display equations, consecutively. They should take the form:

$$\lambda_{\text{eff}}(t) = \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \lambda(t) \quad (1),$$

and should be created using Word Equation Editor (or MathType): Insert menu > Object > Microsoft Equation (or MathType Equation).

In-line equations: In-line equations [e.g. $y=(a+x)e^{-1-t}$] and special characters must be written as normal Word text, using Symbol font (Insert menu > Symbol) as appropriate. Special characters that are not available by this method can be created using Word Equation Editor.

TeX/LaTeX: We are currently unable to accept this format. Please use the RTF/MS Word converter to reformat your document. Authors of converted documents should check them very carefully for loss of characters or styling.

Appendices

Prepare following normal journal style.

All figures, tables and equations should be numbered separately from the main text as Fig. A1, Table A1, Eqn A1, etc.

References

References in text

Each reference cited in the text must be listed in the References and vice versa: please check these carefully.

Literature citations in text are as follows.

- (1) One author – (Jones, 1995) or (Jones, 1995; Smith, 1996).
- (2) Two authors – (Jones and Kane, 1994) or (Jones and Kane, 1994; Smith, 1996).

- (3) More than two authors – (Jones et al., 1995) or (Jones et al., 1995a; Jones et al., 1995b; Smith et al., 1994; Smith et al., 1995).
- (4) Avoid any additional text within the brackets; this format is necessary for on-line literature searches.
- (5) Manuscripts accepted for publication but not yet published – list in References as (in press).
- (6) Citation of unpublished work:
 - (a) Your own unpublished observations and results submitted for publication should be cited in text only and not in the reference list. Use the format (S. P. Jones, unpublished).
 - (b) Personal communications, i.e. the unpublished observations of other scientists, will only be published when substantiated by written permission.

Reference list

- (1) References are listed in alphabetical order according to surname and initials of first author. Within a group of papers with the same first author, list single author papers first, then papers with two authors, then et al. papers. If more than one reference exists for each type, arrange in date order. Use a and b for papers published in the same year.
- (2) 'In press' citations must have been accepted for publication and the name of the journal or publisher included.
- (3) Initials should follow all surnames in the list of authors; insert a full stop and space after each initial and parentheses round the date followed by a full stop. Use bold for authors' names.
- (4) Use USA National Standard abbreviations for journals.
- (5) Use the following style:

Rochlin, M. W., Itoh, K., Adelstein, R. S. and Bridgman, P. C. (1995). Localization of myosin IIA and B isoforms in cultured neurons. *J. Cell Sci.* **108**, 3661-3670.

Matlin, K. S. and Caplan, M. J. (1992). Epithelial cell structure and polarity. In *The Kidney: Physiology and Pathophysiology* (ed. D. W. Seldin and G. Giebisch), pp. 447-473. New York: Raven Press Ltd.

If there are more than 10 authors, use 'et al.' after the 10th author.

Endnote users

Please download the Endnote Styles to format your MS. Also available is a Journal Terms list (MedlineTerms.txt), which contains 3372 Medline journal abbreviations that can be used in conjunction with these styles.

Please refer to your Endnote manual for instructions on how to import the Terms List and add the journal output styles.

[styles.zip](#)

[Med_Abbr.zip](#)

Macintosh

styles.hqx
Med Abbr.hqx

Please submit a copy of your document without field codes, as described in the Endnote Help system: 'Removing Field Codes'.

Author contributions

An author is someone who has made significant and substantial contributions to a study. This should include conception, design, execution and interpretation of the findings being published, and drafting and revising the article. Papers must be submitted with the agreement of all authors, and all authors should give final approval of the version to be published.

Those who have made other contributions to the work, such as by providing reagents or assisting with the writing, should be listed in the Acknowledgements and their role or involvement outlined.

Author competing interests

Please declare any competing interests (as defined in our publishing ethics) in the cover letter that you submit with your manuscript.

Disclaimer

Responsibility for (1) the accuracy of statements of fact, (2) the authenticity of scientific findings or observations, (3) expressions of scientific or other opinion and (4) any other material published in the journal rests solely with the author(s) of the article in which such statements, etc., appear. No responsibility for such matters is assumed by the journal or its owners, publishers, reviewers or staff.

Genetic nomenclature

Gene names should be in italic type, but the protein product of a gene should be in Roman type. Genetic nomenclature should be in accordance with established conventions and should be approved by the relevant nomenclature curator if applicable.

Arabidopsis: <http://www.arabidopsis.org/portals/nomenclature/guidelines.jsp>

Caenorhabditis elegans: <http://www.wormbase.org>

Drosophila: <http://flybase.bio.indiana.edu/docs/nomenclature/lk/nomenclature.html>

Human: <http://www.genenames.org/aboutHGNC.html>

Maize: http://www.maizegdb.org/maize_nomenclature.php

Mouse: <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/index.shtml>

Zebrafish: http://zfin.org/zf_info/nomen.html

Taxonomic nomenclature

The Latin name and taxonomic authority (e.g. Linnaeus) should be given for all experimental species.

Referências bibliográficas

- Ballam, G. O. (1984). Ventilatory response to inspired CO₂ in the lizard, *Tupinambis mgropunctatus*. **Comp. Biochem. Physiol.** 78A, 757-762.
- Barley, A.J., Spinks, P.Q., Thomson, R.C. e Shaffer, H.C., (2009) Fourteen nuclear genes provide phylogenetic resolution for difficult nodes in the turtle tree of life. **Mol. Phylogenet. Evol.** 55: 1189–1194
- Belkin, D. A. (1963) Anoxia: Tolerance in Reptiles. **Science.** 139, 3554:492-493
- Benchetrit G e Dejours P. (1980) Ventilatory CO₂ drive in the tortoise *Testudo horsfieldi*. **J Exp Biol.** 87:229-36.
- Bickham, J. W. e Carr J. L.(1983). Taxonomy and Phylogeny of the Higher Categories of Cryptodiran Turtles Based on a Cladistic Analysis of Chromosomal Data. **Copeia** 1983:918-932.
- Blackwell, S. B. e Le Boeuf, B. J. (1993). Developmental aspects of sleep apnea in northern elephant seals, *Mirounga angustirostris*. **J. Zool., Lond.** 231, 437–447.
- Boyd, I. L. (1997).The behavioural and physiological ecology of diving.Trends **Ecol. Evol.** 12, 213-217.
- Boyer, D. R. (1963) Hypoxia: Effects on Heart Rate and Respiration in the Snapping Turtle. **Science**, Vol. 140.
- Brainerd, E. L. (1999) New perspectives on the evolution of lung ventilation mechanisms in vertebrates. **Experimental Biology** 4:11–28
- Brischoux, F., Bonnet, X., Cook, T. R. e Shine, R. (2008). Allometry of diving capacities: ectothermy vs. endothermy. **J .Evol. Biol.** 21:324–329.
- Burggren, W. W. (1976) A quantitative analysis af ventilation tachycardia and its control in two chelonians, *Pseudemys scripta* and *Testudo graeca*. **Jornal of Experimental Biology.** 63, 367-80
- Burggren, W. W. (1991) Does comparative respiratory physiology have a role in evolutionary biology (and vice versa)? **In A. J. Woakes, M. K. Grieshaber, and C. R. Bridges (eds.)**, Comparative insights into strategies for gas exchange and metabolism, pp. 1-13. Cambridge University Press, New York.
- Caldogneto, L; Puerto, G. e Serapicos, E. O. (2002) Estudo dos valores glicêmicos em *Trachemys scripta elegans* mantidas em cativeiro. **In: XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia**, Itajaí. Anais do Itajaí: SBZ, 2002. p. 448.

Carvalho, P., Bocquentin, J. e de Lapparent de Broin, F. (2002). Une nouvelle espèce de Podocnemis (Pleurodira, Podocnemididae) provenant du Néogène de La formation Solimões, Acre, Brésil. **Geobios** 35,677–686.

Castellini, M.A., Rea, L.D., Sanders, J.L., Castellini, J.M. e Zenteno-Savin, T., (1994) Developmental changes in cardiorespiratory patterns of sleep-associated apnea in northern elephant seals. **Am. J. Physiol.** 267, 1294-1301.

Conant, R. e Collins, J. T. (1998) A field guide to reptiles e amphibians of eastern and central North America. New York: Houghton Mifflin Company, 1998. 616 p.

Cope, E. D. (1871). On the homologies of some of the cranial bones of the Reptilia, and on the systematic arrangement of this class. **Proc. Am. Assoc. Adv. Sci.** 1871:194-247.

de Lapparent de Broin, F. (2000).The oldest pre-podocnemidid turtle (Chelonii, Pleurodira),from the early Cretaceous, Ceara State, Brasil, and its environment. **Treb.Mus.Geol.** Barcelona 9,43–95.

de Lapparent de Broin, F. (2001). The European turtle fauna from the Triassic to the Present. **Dumerilia** 4, 155–217.

Duncker, H. R. (2004) Vertebrate lungs: structure, topography and mechanics. A comparative perspective of the progressive integration of respiratory system, locomotor apparatus and ontogenetic development, **Resp. Physiol. Neurobiol.** 144 (2004), pp. 111–124.

Ernst, C. H, Lovich, J. E. e Barbour, R. W. (1994) Turtles of the United States and Canada. Washington DC: **Smithsonian Institution Press.**

Ernst, C. H., Altenburg, R. G. M. e Barbour, R.W., (2000). Turtles of the World. World Biodiversity Database, CD-ROM Series, Windows Version 1.2. Biodiversity Center of ETI, Amsterdam.

Ernst, C. H.; Barbour, W. (1989) Turtles of the world. Washington: **Smithsonian Institution Press**, 313 p.

Frair, W., Mittermeier, R. A., e Rhodin, A. G. J.(1978) Blood biochemistry and relations among Podocnemis turtles (Pleurodira, Pelomedusidae).**Comp. Biochem. Physiol.** 61B:139–143.

Fritz, U. e Havas, P. (2007).Checklist of chelonians of the world. **Vertebr.Zool.**57,149–368.

Gaffney, E. S. (1975) A phylogeny and classification of the higher categories of turtle. **Bull. Am. Mus. Nat. Hist.** 155:387-436.

Gaffney, E. S. (1984) Historical analyses of theories of chelonian relationship. **Syst. Zool.** 33, 283–301.

Gaffney, E. S. (1990) The comparative osteology of the Triassic turtle *Proganochelys*. **Bull. Am. Mus. Nat. Hist.** 194, 1–263.

Gaffney, E. S., Meylan, P.A. e Wyss, A. R., (1991). A computer assisted analysis of the relationships of the higher categories of turtles. **Cladistics** 7, 313–335.

Gaffney, E.S. e Meylan, P.A., (1988). A phylogeny of turtles. In: *Benton, M.J. (Ed.), The Phylogeny and Classification of Tetrapods*. Clarendon Press, Oxford, pp. 157–219.

Gans, C. and Clark, B. (1976). Studies on ventilation of *Caimanocrocodilus* (Crocodylia: Reptilia). **Respir. Physiol.** 26, 285–301.

Gans, C. e Hughes, G. M. (1967). The mechanism of lung ventilation in the tortoise *Testudo graeca* Linne. *J. Exp. Biol.* 47, 1-20.

Gaunt, A. S. e Gans, C. (1969) Mechanics of respiration in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* (Linne). **J.Morphol.** 128:195–228

Glass, M. e Johansen, K. (1976). Control of breathing in *Acrochordus javanicus*, an aquatic snake. **Physiol. Zool.** 49, 328-340.

Gordos, M. A., Franklin, C. E. e Limpus, C. J. (2004) Effect of water depth and water velocity upon the surfacing frequency of the bimodally respiring freshwater turtle, *Rheodytes leukops*. **Journal of Experimental Biology** 207:3099–3107.

Gordos, M., e Franklin, C. E. (2002). Diving behavior of two Australian bimodally respiring turtles, *Rheodytes leukops* and *Emydura macquarii*, in a natural setting. **Journal of Zoology.** 258:335–342.

Halsey, L.G., Blackburn, T.M. e Butler, P.J. (2006a). A comparative analysis of the diving behaviour of birds and mammals. **Funct. Ecol.** 20: 889–899.

Halsey, L.G., Butler, P.J. e Blackburn, T. M. (2006b). A phylogenetic analysis of the allometry of diving. **Am. Nat.** 167: 276–287.

Hochscheid, S., McMahon, C. R., Bradshaw, C. J.A., Maffucci, F., Bentivegna, F. and Hays G. C. (2007). Allometric scaling of lung volume and its consequences for marine turtle diving performance. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A** 148, 360–367.

IUCN (2010). Tortoise e Freshwater Turtle Specialist Group 1996. *Podocnemis unifilis*. In: *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. Acessado em 18 Abril 2011.

Iverson, J. B. (1984). Proportional skeletal mass in turtles. *Florida Scientist* 47:1–11

Iverson, J.B. (1992) A revised checklist with distribution map of the turtles of the world. Richmond: **Privately Printed**. 374 p.

Jackson, D. C. (1969). Buoyancy control in the freshwater turtle, *Pseudemys scripta elegans*. **Science** 166: 1649–1651.

Jackson, D. C. (1971). Mechanical basis for lung volume variability in the turtle *Pseudemys scripta elegans*. **American Journal of Physiology** 220:754–758.

Jackson, D. C. (2000). How a turtle's shell helps it survive prolonged anoxic acidosis. *News in Physiological Science* 15:181–185

Klein, W. e Codd, J. R. (2010) Breathing and Locomotion: comparative anatomy, morphology and function. **Respiratory Physiology e Neurobiology**, 173:26-S32.

Kooyman, G. L. (1973) Gas exchange in penguins during simulated dives to 30 and 68 m. **Am. J. Physiol.** 225: 1467-1471.

Krenz, J.G., Naylor, G.J.P., Shaffer, H.B., Janzen, F.J., (2005) Molecular phylogenetics and evolution of turtles. **Mol. Phylogenet. Evol.** 37, 178–191.

Landberg, T., Mailhot, J., Brainerd, E.L., (2003) Lung ventilation during treadmill locomotion in a terrestrial turtle *Terrapene carolina*. **J. Exp. Biol.** 206, 3391–3404.

Landberg, T., Mailhot, J.D., Brainerd, E.L., (2009) Lung ventilation during treadmill locomotion in a semi-aquatic turtle, *Trachemys scripta*. **J. Exp. Zool.** A 311, 551–562.

Lutz, P.L. e Bentley, T. B. (1985) Respiratory physiology of diving in the sea turtle. **Copeia** 1980 (3) : 671-679.

Maina, J. N. (2000). Comparative Respiratory Morphology: Themes and Principles in the Design and Construction of the Gas Exchangers. **The Anatomical Record (New Anat.)** 261:25–44.

Malpighi, M. (1671). Letter concerning some anatomical observations about the structure of the lungs of frogs, tortoises, and perfecter animals. **Phil. Trans.** 6, 2149-2150.

Marvin, G. A., e Lutterschmidt, W. I. (1997). Locomotor performance in juvenile and adult box turtles (*Terrapene carolina*): A reanalysis for effects of body size and extrinsic load using a terrestrial species. **Journal of Herpetology** 31:582–586.

McCutcheon, F. H. (1943) The respiratory mechanism in turtles. *Physiol. Zool.* 16, 255-269

Miller, K., e Birchard, G. F. (2005). Influence of body size on shell mass in the ornate box turtle, *Terrapene ornata*. **Journal of Herpetology** 39:158–161.

Milsom, W. K. (1975). Development of buoyancy control in juvenile Atlantic loggerhead turtles, *Caretta caretta*. **Copeia** 1975:758–762.

Milsom, W. K. (1991) Intermittent breathing in vertebrates. **Annu. Rev. Physiol.** 53:87-105.

Milsom, W. K., Chan, P. (1986). The relationship between lung volume, respiratory drive and breathing pattern in the turtle, *Chrysemys picta*. **J. Exp. Bio.** 120:233-47

Milsom, W.K., Johansen, K. (1975). The effect of buoyancy induced lung volume changes on respiratory frequency in a Chelonian (*Caretta caretta*). **Journal of Comparative Physiology** 98, 157–160.

Minamikawa, S., Naito Y., e Uchida, I. (1997). Buoyancy control in diving behavior of the loggerhead turtle, *Caretta caretta*. **Journal of Ethology** 15:109–118

Mitchell, S. W. and Morehouse, G. R. (1863). Researches upon the anatomy and physiology of respiration in the Chelonia. **Smithsonian Contribution to Knowledge** 159, 1-42.

Molina, F. B. (1992). O comportamento reprodutivo de quelônios. **Biotemas**, 5: 61-70.

Naifeh K.H., Huggins S.E., Hoff H.E., Hugg T.W. e Norton R.E. (1970) Respiratory patterns in crocodylian reptiles. **Respir.Physiol.** 9, 31-42.

Paladino, F. V., Spotila, J. R., O'Connor, M. P. e Gatten, R. E. (1996). Respiratory physiology of adult leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) while nesting on land. **Chel. Cons. Biol.** 2, 223– 229.

Pelster, B. (2009). Buoyancy Control in Aquatic Vertebrates. **In: Glass, M.L. and Wood, S.C. (eds.), Cardio-Respiratory Control in Vertebrates.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Perry S.F. (1998) Lungs: Comparative anatomy, functional morphology, and evolution. **In: Gans, C. e Gaunt, A. S. Biology of the Reptilia** p. 1. Society for the Study of Amphibians and Reptilians, Ithaca, New York.

Peterson, C. C e Gomez, D. (2008). Buoyancy regulation in two species of freshwater turtle. **Herpetologica** 64(2): 141-148

Pough, F.H. (1980) The advantages of ectothermy for tetrapods. **Am. Nat.** 115: 92–112.

Pough, F.H., Janis, C.M. e Heiser, J.B. (2008). A Vida dos Vertebrados. 4ª edição. **Atheneu Editora.** São Paulo (SP) 839 pp.

Price, E. R., Paladino, F. V., Strohl, K. P., Santidrián T. P. Klann, K. e Spotila J. R. (2007) Respiration in neonate sea turtles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A 146:422–428

Pritchard, P.C.H., Trebbau, P., (1984) . The turtles of Venezuela. **Society for the Study of Amphibians Reptiles**, Oxford, OH.

Schmidt-Nielsen, K. 1990. Animal Physiology: Adaptation and Environment, 4th Ed. **Cambridge University Press**, Cambridge, U.K.

Schreer, J.F., Kovacs, K.M., (1997). Allometry of diving capacity in air-breathing vertebrates. **Can. J. Zool.** 75, 339–358.

Seidel, M. E. (2002). Taxonomic observations on extant species and subspecies of slider turtles, genus *Trachemys*. **Journal of Herpetology** 36:285-292.

Seidel, M. , E. (1988) Revision of the West Indian emydid turtles (Testudines). **American Museum Novitates**. 2918:141.

Shelton, G. e Boutilier, R.G (1982) . Apnoea in Amphibians and Reptiles. **J Exp Biol** 100, 245-273.

Starkey, D. E. (1997) Molecular systematics and biogeography of the New World turtle genera *Trachemys* and *Kinosternon*. Unpubl. **Ph.D. diss.**, Texas A e M University, College Station.

Taylor, M. A. (1994). Stone, bone, or blubber? Buoyancy control strategies in aquatic tetrapods. Pp. 151–161. In **L. Maddock, Q. Bone, and J. M. V. Rayner (Eds.)**, **Mechanics and Physiology of Animal Swimming**. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

Thorbjarnarson, J.B., Lagueux, C.J., Bolze, D., Klemens, M.W.,Meylan, A.B., (2000). Human use of turtle: a worldwide perspective. In: **Klemens, M.W. (Ed.)**, **Turtle Conservation**. Smithsonian Institution Press, Washington and London.

Vanzolini, P. E. (1995). A new species of turtle, genus *Trachemys*, from the state of Maranhão, Brazil (Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Biologia** 55: 111–125.

Vargas-Ramírez, M., Castaño-Mora, O. V. e Fritz, U (2008) Molecular phylogeny and divergence times of ancient South American and Malagasy river turtles (Testudines: Pleurodira: Podocnemididae). **Organisms Diversity & Evolution**. 8:388-398

Vitalis T. Z. e Milsom W. K. (1986a) Pulmonary mechanics and the work of breathing in the semi-aquatic turtle, *Pseudemys scripta*. **J.Exp.Biol.** 125, 137-155.

Vitalis T. Z. e Milsom W. K. (1986b) Mechanical analysis of the spontaneous breathing in the semi-aquatic turtle, *Pseudemys scripta*. **J.Exp.Biol.** 125, 157-171.

Wood, R.C., (1984). Evolution of the pelomedusid turtles. **Stud. Geol. Salmant. Esp** (Stud. Palaeocheloniol. I), 269–282.

Wood, R.C., (1997). Turtles. In: *Kay, R.F., Madden, R.H., Cifelli, R.L., Flynn, J.J. (Eds.), Vertebrate Paleontology in the Neotropics. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 155–170.*

Zani, P. A., e Claussen, D. L..(1994). Voluntary and forced terrestrial locomotion in juvenile and adult painted turtles, *Chrysemys picta*. **Copeia** 1994:466–471.

Zug, G. R. (1971). Buoyancy, locomotion, morphology of the pelvic girdle and hindlimb, and systematics of Cryptodiran turtles. **Misc Publ Mus Zool Univer Mich** 142, 1–90