RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/05/2028

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

VARIAÇÃO SAZONAL DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL DE ERITRÓCITOS DE LAGARTOS TEIÚ *Salvator merianae*

João Vitor Paris Xavier
Bacharel em Ciências Biológicas

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

VARIAÇÃO SAZONAL DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL DE ERITRÓCITOS DE LAGARTOS TEIÚ *Salvator merianae*

Discente: JOÃO VITOR PARIS XAVIER

Orientadora: Prof. Dr.ª Kênia Cardoso Bícego
Coorientador: Dr. Derek Felipe Campos

Dissertação apresentada ao Programa Institucional de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2026

X3v

Xavier, João Vitor Paris

Variação sazonal da função mitocondrial de eritrócitos de lagartos teiú Salvator merianae / João Vitor Paris Xavier. -- Jaboticabal, 2026

90 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Kênia Cardoso Bícego

1. Fisiologia animal. 2. Mitocondria. 3. Variações Sazonais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: VARIAÇÃO SAZONAL DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL DE ERITRÓCITOS DE LAGARTOS TEIÚ *Salvator merianae*

AUTOR: JOÃO VITOR PARIS XAVIER
ORIENTADORA: KÊNIA CARDOSO BÍCEGO
COORIENTADOR: DEREK FELIPE DE CAMPOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Fisiologia e Bem Estar Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br KENIA CARDOSO BICEGO
Data: 26/05/2026 18:19:30-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. KÊNIA CARDOSO BÍCEGO (Participaçao Presencial)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / UNESP / Câmpus de Jaboticabal - FCAV

Documento assinado digitalmente
gov.br MARINA RINCON SARTORI
Data: 27/05/2026 12:05:15-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Pós-doutoranda MARINA RINCON SARTORI (Participaçao Virtual)
University of Calgary / Calgary/Alberta/Canadá

Documento assinado digitalmente
gov.br DENIS OTAVIO VIEIRA DE ANDRADE
Data: 27/05/2026 17:27:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. DENIS OTAVIO VIEIRA DE ANDRADE (Participaçao Virtual)
Departamento de Biodiversidade / UNESP / Câmpus de Rio Claro - IB

Jaboticabal, 26 de maio de 2026.

Dados Curriculares Do Autor

João Vitor Paris Xavier, nascido em 24 de maio de 2001, na cidade de Ribeirão Preto – SP, filho de Aparecido Donizeti Xavier e Sônia Maria Paris Xavier. Graduado Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV-Jaboticabal). Foi bolsista CNPq durante a iniciação científica em pesquisa sobre o uso de acelerômetros como uma ferramenta para ser utilizada como proxy da taxa metabólica de lagartos teiú *Salvator merianae* ao longo de seu ciclo metabólico sazonal, no Laboratório de Fisiologia, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (UNESP-FCAV), sob orientação da Prof.ª Dr.ª Kênia Cardoso Bícego. Atualmente, realiza mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Câmpus Jaboticabal, com bolsa Capes, atuando no Laboratório de Fisiologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, sob orientação da Prof.ª Dr.ª Kênia Cardoso Bícego.

“A coisa mais bela que podemos experimentar é o mistério.
É a verdadeira fonte de toda arte e ciência.”

- Lemony Snicket

AGRADECIMENTOS

Ser um biólogo é algo que surgiu em mim ainda na infância. O desejo por entender e poder ajudar os animais é algo que sempre me motivou a continuar lutando pelo equilíbrio da vida. Ao longo da minha vida, sempre me senti rodeado por pessoas que tinham algo diferente para me ensinar. Este estudo é dedicado a cada um de vocês que eu tive o prazer de conhecer, dentre os quais agradeço em especial:

À minha mãe, Sônia Maria Paris Xavier, por não somente ter me dado o sopro da vida, como também por ter me dado amor, orientação e suporte nos dias mais difíceis, mas também por sempre ter feito o impossível para garantir o meu conforto e dedicação aos estudos, pelo apoio incondicional às minhas escolhas.

Ao meu pai, Aparecido Donizeti Xavier, por sempre ter me ensinado o valor gratificante de um trabalho esmerado para o homem, dando-me motivação para forjar esse estudo, e por sempre, mesmo que não sabendo como demonstrar, ter me amado e oferecido seu suporte durante os meus estudos.

À minha cadela, Emma, que provavelmente sem consciência dos aspectos da minha vida, sempre esteve presente para me reconfortar com seu amor e carinho, contribuindo indiretamente, mas de forma significativa para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos de Ribeirão Preto, que me conduziram na vida até a pessoa que eu sou hoje, apoiando-me e preenchendo a minha vida com o seu amor, carinho, risadas e companheirismo, por entenderem as minhas ausências e me socorrerem em momentos de desespero; em especial à Renata de Souza Paula, Gabriela Watanabe, Brenda Moreira, Carolina Arruda, Gabriel Victor Lopes, João Pedro Fernandes e Nadine Oliveira

Ao meu “irmão mais velho da ciência”, Prof. Dr. Jórdan F. Sampar, não somente pelos ensinamentos da vida, como também por todo o carinho, ternura e apoio que têm me dado desde o meu ensino médio, por sempre acreditar no meu potencial, mesmo quando eu próprio não acreditava em mim. Obrigado por cada conselho, desabafo e risadas.

Aos meus caríssimos colegas e amigos de departamento; Isabela, Bianca, Sofia, Mariana R., Camila, Leonardo, Beatriz D., Letícia, Fábio e Gabriel; pela paciência, carinho, gentileza e amor ao longo destes quase quatro anos. Mesmo com vidas científicas tão exigentes e turbulentas quanto a minha, vocês sempre estiveram presentes, oferecendo apoio e contribuindo, ainda que indiretamente, para o desenvolvimento deste trabalho. Sem dúvida, vocês se tornarão excelentes profissionais em suas respectivas áreas.

Às minhas companheiras de laboratório, Ane Guadalupe Silva e Lívia Saccani Hervas, cientistas brilhantes que me ensinaram grande parte de tudo o que sei a respeito de fisiologia e manejo de répteis, técnicas laboratoriais e a vida acadêmica. Obrigado pela paciência e ensinamentos para comigo.

A Derek Felipe Campos pela ajuda, paciência e atenção, como também pelas boas risadas proporcionadas pelo nosso convívio no laboratório, tornando dias difíceis sempre suportáveis.

Aos animais dos meus experimentos por terem, literalmente, dado as suas vidas por este trabalho, contribuindo para o meu crescimento acadêmico e como ser humano. Possivelmente não sabendo do meu carinho por eles, sempre foi um prazer estar rodeado e poder trabalhar com essas criaturas magníficas.

Um agradecimento em especial à minha Orientadora e Professora, Dr.ª Kênia Cardoso Bícego, a qual sem seus ensinamentos, coleguismo, paciência e orientação, não seria possível a realização e finalização deste estudo. Agradeço por todas as oportunidades oferecidas e pela confiança no meu trabalho, mesmo quando eu não possuía tal confiança em mim.

Agradeço a todos os alunos do Laboratório de Fisiologia Térmica Integrativa (LaFiTI) e do Gargaglioni’s Lab pela constante troca de ideias, pelas críticas construtivas e pelas valiosas contribuições ao longo dos anos, fundamentais para a construção e o aprimoramento dos protocolos experimentais.

À Capes e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela disponibilização de bolsa de mestrado, processo 88887.003971/2024-00. À FAPESP pelo suporte financeiro junto ao LaFiTI (Temático processo 2021/10910-0) e EMU-FAPESP (2022/11412-7) pela aquisição do equipamento Oxígrafo.

À UNESP, Campus de Jaboticabal pela provisão de infraestrutura de laboratório.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Variação sazonal da função mitocondrial de eritrócitos de lagartos Teiú Salvator Merianae"**, protocolo nº 4743/2024, sob a responsabilidade da Profa. Dra. KÊNIA CARDOSO BÍCEGO, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 23 de outubro de 2024.

(We certify that the research project entitled **"Seasonal variation of mitochondrial function of erythrocytes of Teiú Lizards Salvator Merianae"**, protocol nº. 4743/2024, under the responsibility of Dr. KÊNIA CARDOSO BÍCEGO, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the Chordata phylum, vertebrate subfile (except man), for the purposes of scientific research (or teaching) - is in accordance with the precepts of Law no. 11,794, of October 8, 2008, in Decree 6,899, of July 15, 2009, and with the rules issued by the National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on Animal Use (CEUA), from the SCHOOL OF AGRICULTURAL AND VETERINARY SCIENCES, UNESP - JABOTICABAL - SP Campus, at October, 23, 2024 an ordinary meeting.)

Vigência do Projeto	01/10/2024 a 31/03/2026
Espécie / Linhagem	Salvator Merianae
Nº de animais	10
Peso / Idade	1,0 – 4,0 kg
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Captura em campo

Jaboticabal, 23 de outubro de 2024

gov.br
Documento assinado digitalmente
HELENA CRISTINA DELGADO BRITO
Data: 29/10/2024 10:07:30-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Helena Cristina Delgado Brito
Coordenadora – CEUA

VARIAÇÃO SAZONAL DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL DE ERITRÓCITOS DE LAGARTOS TEIÚ *Salvator merianae*

RESUMO

Mudanças sazonais no metabolismo são comuns em répteis e exigem ajustes coordenados na bioenergética celular. Nestes vertebrados, os eritrócitos são nucleados, isto é, essas células mantêm mitocôndrias funcionais e, portanto, podem apresentar processos metabólicos aeróbicos próprios, além do transporte de oxigênio. No presente estudo, investigamos a variação sazonal da respiração mitocondrial e da atividade de enzimas metabólicas em eritrócitos do lagarto teiú *Salvator merianae*, uma espécie que apresenta pronunciadas transições metabólicas sazonais e o fenômeno da endotermia facultativa da reprodução. Foram realizadas coletas de sangue nos mesmos indivíduos (7 machos e 3 fêmeas) nos meses de fevereiro (pré-dormência), junho (dormência), setembro (reprodução) e novembro (pós-reprodução), para avaliação da respiração e do desacoplamento mitocondriais dos eritrócitos em oxígrafo de alta resolução. Além disso, também foram medidos nessas mesmas amostras de sangue, as concentrações de hemoglobina e proteínas totais, as atividades da citrato sintase (metabolismo aeróbico) e da lactato desidrogenase (metabolismo anaeróbico) e as concentrações de ATP e ADP. A respiração mitocondrial variou significativamente ao longo do ciclo anual. O fluxo respiratório foi menor durante a dormência de inverno e aumentou durante a estação reprodutiva, indicando maior metabolismo oxidativo quando as demandas energéticas são mais elevadas. Em contraste, a atividade da lactato desidrogenase foi maior durante a dormência, sugerindo maior dependência de vias glicolíticas sob condições de metabolismo suprimido. Apesar dessas variações sazonais no fluxo respiratório, a capacidade mitocondrial máxima permaneceu estável, indicando preservação da função mitocondrial durante a dormência. A respiração associada ao vazamento de prótons (desacoplamento) não aumentou durante a estação reprodutiva, não havendo evidências de que as mitocôndrias dos eritrócitos contribuam diretamente para a termogênese associada à endotermia reprodutiva. Em conjunto, esses resultados demonstram pela primeira vez que o metabolismo mitocondrial dos eritrócitos acompanha a variação sazonal do metabolismo do organismo, mantendo a capacidade mitocondrial ao longo de diferentes estados fisiológicos.

Palavras-chave: Cadeia transportadora de elétrons, eficiência energética, dormência

SEASONAL VARIATION OF MITOCHONDRIAL FUNCTION IN ERYTHROCYTES OF THE TEGU LIZARD *Salvator merianae.*

ABSTRACT

Seasonal changes in metabolism are common in reptiles and require coordinated adjustments in cellular bioenergetics. In these vertebrates, erythrocytes are nucleated, meaning that these cells retain functional mitochondria and can therefore perform their own aerobic metabolic processes in addition to oxygen transport. In the present study, we investigated the seasonal variation in mitochondrial respiration and metabolic enzyme activity in erythrocytes of the tegu lizard *Salvator merianae*, a species that exhibits pronounced seasonal metabolic transitions and facultative reproductive endothermy. Blood samples were collected from the same individuals (7 males and 3 females) in the months of February (pre-dormancy), June (dormancy), September (reproduction) and November (post-reproduction) to assess erythrocyte mitochondrial respiration and proton leak using high-resolution respirometry. In addition, hemoglobin and total protein concentrations, citrate synthase (aerobic metabolism) and lactate dehydrogenase (anaerobic metabolism) activities, as well as ATP and ADP concentrations, were measured in the same blood samples. Mitochondrial respiration varied significantly throughout the annual cycle. Respiratory flux was lower during winter dormancy and increased during the reproductive season, indicating enhanced oxidative metabolism when energetic demands are higher. In contrast, lactate dehydrogenase activity was higher during dormancy, suggesting a greater reliance on glycolytic pathways under conditions of metabolic suppression. Despite these seasonal variations in respiratory flux, maximal mitochondrial capacity remained stable, indicating preservation of mitochondrial function during dormancy. Proton leak–associated respiration (uncoupling) did not increase during the reproductive season, providing no evidence that erythrocyte mitochondria directly contribute to thermogenesis associated with reproductive endothermy. Together, these results demonstrate for the first time that erythrocyte mitochondrial metabolism tracks seasonal changes in whole-organism metabolism, while maintaining mitochondrial capacity across different physiological states.

Keywords: Electron transport chain, Energetic efficience, dormancy

Chapter I – General Considerations

1. Vertebrates Erythrocytes

Blood is a multifunctional connective tissue that plays a central role in maintaining homeostasis in vertebrates (Snyder and Sheafor, 1999; Claver and Quaglia, 2009). Its primary functions include the transport of respiratory gases, nutrients, metabolic waste products and signalling molecules, as well as participation in immune defence, acid-base balance and thermoregulation (Sawka and Coyle, 1999; Wells, 1999; Jensen, 2004). Through continuous circulation, blood integrates physiological processes across tissues, ensuring that metabolic demands are met under both stable and fluctuating environmental conditions. These functions are tightly coupled to variation in metabolic rate and oxygen demand across vertebrates (Isaacks et al., 1977; Luís Val, 2000; Casagrande et al., 2023).

Among these roles, the transport of oxygen (O_2) and carbon dioxide (CO_2) is one of the most critical functions of blood. Oxygen is required for aerobic metabolism and ATP production, whereas carbon dioxide is a byproduct of cellular respiration that must be efficiently removed to maintain acid–base homeostasis (Jensen, 2004). In vertebrates, this transport is largely mediated by erythrocytes (red blood cells; RBCs), which contain high concentrations of haemoglobin, a protein specialized in reversible oxygen binding (Jensen, 2004; Weber et al., 2010). Haemoglobin's affinity for oxygen is finely regulated by multiple factors, including pH, temperature and intracellular metabolites, allowing blood to adjust oxygen loading at the respiratory surfaces and unloading at the tissues according to metabolic demand (Wood and Johansen, 1973; Nikinmaa, 1992; Jensen, 2004; Weber et al., 2010). Carbon dioxide is largely transported as bicarbonate (HCO_3^-), formed within erythrocytes via carbonic anhydrase. This enzyme catalyses the rapid interconversion between CO_2 and bicarbonate, enabling efficient CO_2 transport and contributing to acid–base regulation (Jensen, 2004).

Erythrocytes are the primary cellular component responsible for gas transport in vertebrate blood. Their structural and functional properties are tightly linked to oxygen transport efficiency and circulatory performance (Snyder and Sheafor, 1999; Wells, 1999; Jensen, 2004). In mammals, erythrocytes are typically anucleate, biconcave cells that lack mitochondria and most organelles (Claver and Quaglia, 2009). In contrast, erythrocytes of non-mammalian vertebrates – including fish, amphibians, reptiles and birds – retain a nucleus and functional organelles, including mitochondria. These nucleated erythrocytes are typically larger and exhibit a more ellipsoidal shape compared with mammalian RBCs (Hartman and Lessler, 1964; Gregory, 2001). They retain the capacity for both glycolytic and oxidative metabolism, and may contribute to systemic physiological processes beyond passive oxygen transport (Stier et al., 2013; Di Giacomo et al., 2015).

The retention of mitochondria in nucleated erythrocytes introduces important functional trade-offs. On one hand, mitochondrial respiration supports intracellular processes such as ion balance and redox homeostasis (Brand and Nicholls, 2011). On the other hand, it implies that erythrocytes consume a fraction of the oxygen they transport, potentially reducing overall transport efficiency (Stier et al., 2013). Additionally, mitochondrial activity can generate reactive oxygen species (ROS), which may affect cellular integrity and haemoglobin function if not properly controlled (Stier et al., 2013; Koch et al., 2021).

Comparative studies indicate that the differences between nucleated and anucleated erythrocytes are linked to the metabolic and thermal strategies of vertebrates (Nikinmaa, 1992; Mauro and Isaacks, 1997; Snyder and Sheafor, 1999; Yap and Zhang, 2021). Mammals benefit from highly specialized erythrocytes optimized for oxygen transport efficiency, whereas ectothermic vertebrates may rely on the functional versatility of nucleated erythrocytes to adjust to changing physiological demands (Snyder and Sheafor, 1999; Stier et al., 2017). Birds, although endothermic, also retain nucleated erythrocytes, highlighting the complexity of the selective pressures shaping erythrocyte evolution.

During erythroblast maturation in mammals, cells typically lose both their nucleus and other organelles, resulting in cells specialized for oxygen transport.

(Moras et al., 2017). Unlike anucleate mammalian erythrocytes, which rely exclusively on anaerobic glycolysis and exhibit high turnover rates, nucleated RBCs tend to have greater cellular longevity, potentially reducing the energetic costs associated with erythropoiesis (Bury et al., 2019; Udroiu, 2020). The retention of mitochondria in circulating erythrocytes also provides a minimally invasive opportunity to assess mitochondrial function (defined here as the ability to use O_2 to oxidize substrate to produce ATP and heat) *ex vivo,* specially in wild and free-living animals (Stier et al., 2013; 2017; Nord et al., 2021).

Despite sharing the common function of gas transport, erythrocytes from birds, reptiles, amphibians and fishes exhibit substantial diversity in size, shape and intracellular organization, reflecting both phylogenetic history and physiological constraints. Amphibian erythrocytes are also nucleated and generally exhibit an oval and flattened morphology, and are notable for their large size relative to other vertebrates (Hartman and Lessler, 1964). In some species, cell dimensions may reach up to 70 × 40 μm. Interestingly, a proportion of anucleate erythrocytes, or erythroplastids, has been reported in certain salamanders, indicating that enucleation, although rare, can occur outside mammals under specific conditions (Villolobos et al., 1988).

Reptilian erythrocytes are broadly similar in morphology and function to those of birds, but display greater variability in size and nuclear shape among species (Altland et al., 1962). Notably, reptilian erythrocytes have an exceptionally long lifespan, which can range from several months to over two years (approximately 600–800 days), suggesting reduced turnover rates and distinct strategies of erythropoiesis compared with other vertebrates (Hartman and Lessler, 1964).

In birds, erythrocytes are typically oval and nucleated, with a centrally located nucleus that becomes progressively more condensed as cells age. Haemoglobin is primarily localized within the cytoplasm, although it may also be present within the nucleus. These cells remain metabolically active due to the retention of organelles, despite the high metabolic demands of avian physiology (Isaacks et al., 1977).

Together, these observations highlight the considerable diversity of erythrocyte structure among non-mammalian vertebrates. The retention of the nucleus and organelles influences both morphology and cellular metabolism, distinguishing these cells from the highly specialized, anucleated erythrocytes of mammals (Hartman and Lessler, 1964; Claver and Quaglia, 2009).

6. CONCLUSION

This study demonstrates that mitochondrial function in erythrocytes of the tegu lizard *Salvator merianae* varies markedly across the annual cycle, closely tracking seasonal shifts in organismal metabolism. Winter dormancy was characterized by suppression of mitochondrial respiratory flux and increased reliance on glycolytic pathways, while mitochondrial capacity remained largely preserved. In contrast, the reproductive season was associated with elevated oxidative metabolism and higher mitochondrial density in erythrocytes, consistent with elevated energetic demands.

Despite the seasonal increase in mitochondrial respiration, our results do not support a direct contribution of erythrocyte mitochondria to the thermogenic mechanisms underlying reproductive endothermy in tegus. Instead, seasonal variation in erythrocyte bioenergetics appears to reflect systemic metabolic adjustments and the coordination between oxygen transport and tissue metabolic demand.

Together, these findings identify nucleated erythrocytes as a valuable and minimally invasive model for investigating mitochondrial bioenergetics and seasonal metabolic flexibility, and suggest that key features of mitochondrial regulation during seasonal metabolic transitions may be conserved across vertebrates.

7. REFERENCES

ABE, 1983 - Observations on dormancy in tegu lizard, Tupinambis teguixin (1983). *Naturalia*.

Altland, P. D., Brace, K. C. and Red Cell Zije, K. C. B. (1962). *Red cell life span in the turtle and toad*.

Andrade, D. V. and Abe, A. S. (1999). ANDRADE & ABE, 1999 - Gas exchange and ventilation during dormancy in the tegu lizard. *J. Exp. Biol.*

Andrade, D. V, Sanders, C., Milsom, W. K. and Abe, A. S. (2004a). *Life in the Cold: Evolution, Mechanisms, Adaptation, and Application*.

Andrade, D. V., Brito, S. P., Toledo, L. F. and Abe, A. S. (2004b). Seasonal changes in blood oxygen transport and acid-base status in the tegu lizard, Tupinambis merianae. *Respir. Physiol. Neurobiol.* **140**, 197–208.

Andrews, R. M. and Pough, F. H. (1985). *Metabolism of Squamate Reptiles: Allometric and Ecological Relationships*.

Angilletta, J. (2001). Variation in metabolic rate between populations of a geographically widespread lizard. *Physiological and Biochemical Zoology* **74**, 11–21.

Bartlett, G. R. (1980). *Phosphate Compounds in Vertebrate Red Blood Cells*.

Bovendorp, R. S., Alvarez, A. D. and Galetti, M. (2008). *Density of the Tegu Lizard (Tupinambis merianae) and its Role as Nest Predator at Anchieta Island, Brazil Densidade de teiús (Tupinambis merianae) e seu papel como predador de ninhos na ilha Anchieta, Brasil*.

Bradford, M. M. (1976). *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*.

Brand, M. D. (2000). *Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inef®ciency in ageing*.

Brand, M. D. and Nicholls, D. G. (2011). Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochemical Journal* **435**, 297–312.

Brand, M. D., Couture, P., Else, P. L., Withers, K. W. and Hulbert, A. J. (1991). *Evolution of energy metabolism Proton permeability of the inner membrane of liver mitochondria is greater in a mammal than in a reptile*.

Brand, M. D., Buckingham, J. A., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., Murphy, M. P., Pakay, J. L., Talbot, D. A. and Echtay, K. S. (2004). *Mitochondrial superoxide and aging: uncoupling-protein activity and superoxide production*.

Brand, M. D., Pakay, J. L., Ocloo, A., Kokoszka, J., Wallace, D. C., Brookes, P. S. and Cornwall, E. J. (2005). The basal proton conductance of mitochondria depends on adenine nucleotide translocase content. *Biochemical Journal* **392**, 353–362.

Brown, J. C. L., Chung, D. J., Belgrave, K. R. and Staples, J. F. (2012). Mitochondrial metabolic suppression and reactive oxygen species production in liver and skeletal muscle of hibernating thirteen-lined ground squirrels. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **302**,.

Bury, S., Bury, A., Sadowska, E. T., Cichoń, M. and Bauchinger, U. (2019). More than just the numbers—contrasting response of snake erythrocytes to thermal acclimation. *Science of Nature* **106**,.

Carey, H. V, Andrews, M. T. and Martin, S. L. (2003). Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature.

Casagrande, S., Dzialo, M., Trost, L., Malkoc, K., Sadowska, E. T., Hau, M., Pierce, B., McWilliams, S. and Bauchinger, U. (2023). Mitochondrial metabolism in blood more reliably predicts whole-animal energy needs compared to other tissues. *iScience* **26**,.

Chamut, S., Jahn, G. A., Arce, O. E. A. and Manes, M. E. (2012). *TESTOSTERONE AND REPRODUCTIVE ACTIVITY IN THE MALE TEGU LIZARD, TUPINAMBIS MERIANAE*.

Chung, D. J. and Schulte, P. M. (2020). Mitochondria and the thermal limits of ectotherms. *Journal of Experimental Biology* **223**,.

Clark, T. D., Butler, P. J. and Frappell, P. B. (2006). Factors influencing the prediction of metabolic rate in a reptile. *Funct. Ecol.* **20**, 105–113.

Clarke, A. and Pörtner, H. O. (2010). Temperature, metabolic power and the evolution of endothermy. *Biological Reviews* **85**, 703–727.

Claver, J. A. and Quaglia, A. I. E. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *J. Exot. Pet Med.* **18**, 87–97.

Dawson, N. J. and Salmón, P. (2020). Age-related increase in mitochondrial quantity may mitigate a decline in mitochondrial quality in red blood cells from zebra finches (Taeniopygia guttata). *Exp. Gerontol.* **133**,.

Dessauer, H. C. (1970). *Blood Chemistry of Reptiles: Physiological and Evolutionary Aspects*.

Di Giacomo, G., Campello, S., Corrado, M., Di Giambattista, L., Cirotti, C., Filomeni, G. and Gentile, G. (2015). Mature erythrocytes of Iguana iguana (Squamata, Iguanidae) possess functional mitochondria. *PLoS One* **10**,.

Divakaruni, A. S. and Brand, M. D. (2011). The regulation and physiology of mitochondrial proton leak. *Physiology (Bethesda)* **26**, 192–205.

Driedzic, W. R. and De Almeida-Val, V. M. F. (1996). Enzymes of cardiac energy metabolism in Amazonian teleosts and the fresh-water stingray (Potamotrygon hystrix). *Journal of Experimental Zoology* **274**, 327–333.

Farmer, C. G. (2003). Reproduction: The Adaptive Significance of Endothermy. *American Naturalist* **162**, 826–840.

Gleeson, T. T. and Harrison, J. M. (1986). *Reptilian Skeletal Muscle: Fiber-Type Composition and Enzymatic Profile in the Lizard, Iguana iguana*.

Gnaiger, E. (2020). Mitochondrial Pathways and Respiratory Control An Introduction to OXPHOS Analysis. *Bioenerg Commun* **2**,.

Grigg, G., Nowack, J., Bicudo, J. E. P. W., Bal, N. C., Woodward, H. N. and Seymour, R. S. (2022). Whole-body endothermy: ancient, homologous and widespread among the ancestors of mammals, birds and crocodylians. *Biological Reviews* **97**, 766–801.

Guderley, H. and Seebacher, F. (2011). Thermal acclimation, mitochondrial capacities and organ metabolic profiles in a reptile (Alligator mississippiensis). *J. Comp. Physiol. B* **181**, 53–64.

Harper, M. E. and Seifert, E. L. (2008). Thyroid hormone effects on mitochondrial energetics. *Thyroid* **18**, 145–156.

Hartman, F. A. and Lessler, M. A. (1964). *Erythrocyte Measurements in Fishes, Amphibia, and Reptiles*.

Harvey, M. B., Ugueto, G. N. and Gutberlet, R. L. (2012). Review of Teiid Morphology with a Revised Taxonomy and Phylogeny of the Teiidae (Lepidosauria: Squamata). In *Zootaxa*, pp. 1–156.

Hervas, L. S., do Amaral-Silva, L., Sartori, M. R., Guadalupe-Silva, A., Gargaglioni, L. H., Lerchner, J., Oliveira, M. T. and Bícego, K. C. (2024). Mitochondrial function in skeletal muscle contributes to reproductive endothermy in tegu lizards (Salvator merianae). *Acta Physiologica* **240**,.

Hess, J. R. and Solheim, B. G. (2016). *Red blood cell metabolism, preservation, and oxygen delivery*.

Hill, N. E., Stacey, M. J. and Woods, D. R. (2011). Energy at high altitude. *J. R. Army Med. Corps* **157**, 43–48.

Isaacks, R. E. and Harkness, D. R. (1980). *Erythrocyte Organic Phosphates and Hemoglobin Function in Birds, Reptiles, and Fishes*.

Isaacks, R. E., Harkness, D. R., Adler, J., Roth, S., Kim, C., Goldman, P. and Sampsell, R. (1977). Studies on Avian Erythrocyte Metabolism: Inositol

Tetrakisphosphate: the Major Phosphate Compound in the Erythrocytes of the Ostrich (Struthio camelus camelus). *Eur. J. Biochem.* **77**, 567–574.

Jarnevich, C. S., Hayes, M. A., Fitzgerald, L. A., Yackel Adams, A. A., Falk, B. G., Collier, M. A. M., Bonewell, L. R., Klug, P. E., Naretto, S. and Reed, R. N. (2018). Modeling the distributions of tegu lizards in native and potential invasive ranges. *Sci. Rep.* **8**,.

Jensen, F. B. (2004). Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O2 and CO2 transport. *Acta Physiol. Scand.* **182**, 215–227.

Kiefer, M. C. and Sazima, I. (2002). KIEFER & SAZIMA, 2002 - Diet of juvenile tegu lizard Tupinambis merianae (Teiidae) in southeastern Brazil.

Klein, W., Perry, S. F., Abe, A. S. and Andrade, D. V. (2006). Metabolic response to feeding in Tupinambis merianae: Circadian rhythm and a possible respiratory constraint. *Physiological and Biochemical Zoology* **79**, 593–601.

Koch, R. E., Buchanan, K. L., Casagrande, S., Crino, O., Dowling, D. K., Hill, G. E., Hood, W. R., McKenzie, M., Mariette, M. M., Noble, D. W. A., et al. (2021). Integrating Mitochondrial Aerobic Metabolism into Ecology and Evolution. *Trends Ecol. Evol.* **36**, 321–332.

Körtner, G. and Geiser, F. (2000). *THE TEMPORAL ORGANIZATION OF DAILY TORPOR AND HIBERNATION: CIRCADIAN AND CIRCANNUAL RHYTHMS*.

López Juri, G., Chiaraviglio, M. and Cardozo, G. (2018). Do female reproductive stage and phenotype influence thermal requirements in an oviparous lizard? *J. Therm. Biol.* **71**, 202–208.

Luís Val, A. (2000). *Organic phosphates in the red blood cells of fish*.

Maria, V., Almeida-Val, E. and Hochachka, P. W. (1995). *Air-breathing fishes" Metabolic biochemistry of the first diving vertebrates*.

Mauro, N. A. and Isaacks, R. E. (1997). *Examination of Reptilian Erythrocytes as Models of the Progenitor of Mammalian Red Blood Cells*.

Migdal, C. and Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Medecine/Sciences* **27**, 405–412.

Moras, M., Lefevre, S. D. and Ostuni, M. A. (2017). From erythroblasts to mature red blood cells: Organelle clearance in mammals. *Front. Physiol.* **8**,.

Morera, D. and MacKenzie, S. A. (2011). Is there a direct role for erythrocytes in the immune response? *Vet. Res.* **42**,.

Muscat, E., Olmos, F. and Rotenberg, E. (2016). *Salvator merianae (black and white tegu) scavaging around the nests of Fregata magnificens (frigatebird)*.

Nikinmaa, M. (1992). *Membrane Transport and Control of Hemoglobin-Oxygen Affinity in Nucleated Erythrocytes*.

Nord, A., Metcalfe, N. B., Page, J. L., Huxtable, A., McCafferty, D. J. and Dawson, N. J. (2021). Avian red blood cell mitochondria produce more heat in winter than in autumn. *FASEB Journal* **35**,.

Noriega, T., Campos Casal, F. and Apichela, S. (2007). *OVARIAN CHANGES DURING THE REPRODUCTIVE CYCLE OF THE TUPINAMBIS MERIANAE LIZARD RAISED IN A TEMPERATE ENVIRONMENT*.

Ogo, S., Bernardes, C., Glass, M., Torsoni, M. and Vercesi, A. (1993). *Journal of Comparative s Functional mitochondria in snake Bothrops alternatus erythrocytes and modulation of Hb02 affinity by mitochondrial ATP*. Springer-Verlag.

Paital, B. and Chainy, G. B. N. (2012). Effects of salinity on O2 consumption, ROS generation and oxidative stress status of gill mitochondria of the mud crab Scylla serrata. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* **155**, 228–237.

Piercy, J., Rogers, K., Reichert, M., Andrade, D. V., Abe, A. S., Tattersall, G. J. and Milsom, W. K. (2015). The relationship between body temperature, heart rate, breathing rate, and rate of oxygen consumption, in the tegu lizard (Tupinambis merianae) at various levels of activity. *J. Comp. Physiol. B* **185**, 891–903.

Price, E. R., McFarlan, J. T. and Guglielmo, C. G. (2010). Preparing for migration? the effects of photoperiod and exercise on muscle oxidative enzymes, lipid transporters, and phospholipids in white-crowned sparrows. *Physiological and Biochemical Zoology* **83**, 252–262.

Ribeiro-Júnior, M. and Amaral, S. (2016). Diversity, distribution, and conservation of lizards (Reptilia: Squamata) in the Brazilian Amazonia. *Neotrop. Biodivers.* **2**, 195–421.

Rodrigo Castro, E. DE and Galetti, M. (2004). Papéis Avulsos de Zoologia FRUGIVORIA E DISPERSÃO DE SEMENTES PELO LAGARTO TEIÚ TUPINAMBIS MERIANAE (REPTILIA: TEIIDAE). **44**, 91–97.

Rolfe, D. F. S. and Brand, M. D. (1997). *The Physiological Significance of Mitochondrial Proton Leak in Animal Cells and Tissues*.

Rolfe, D. F. S. and Brown, G. C. (1997). *Cellular Energy Utilization and Molecular Origin of Standard Metabolic Rate in Mammals*.

Rousset, S., Alves-Guerra, M. C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulcier, A. M., Bouillaud, F. and Ricquier, D. (2004). The Biology of Mitochondrial Uncoupling Proteins. In *Diabetes*, p. American Diabetes Association Inc.

Salin, K., Auer, S. K., Rey, B., Selman, C. and Metcalfe, N. B. (2015). Variation in the link between oxygen consumption and ATP production, and its relevance for animal performance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **282**,.

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

Sanders, C. E., Tattersall, G. J., Reichert, M., Andrade, D. V., Abe, A. S. and Milsom, W. K. (2015). Daily and annual cycles in thermoregulatory behaviour and cardio-respiratory physiology of black and white tegu lizards. *J. Comp. Physiol. B* **185**, 905–915.

Saraste, M. (1999). *Oxidative Phosphorylation at the fin de siècle*.

Sartorius, S. S., Vitt, L. J. and Colli, G. R. (1999). Use of naturally and anthropogenically disturbed habitats in Amazonian rainforest by the teiid lizard Ameiva ameiva. *Biol. Conserv.*

Sawka, M. N. and COYLE, E. F. (1999). Influence of body water and blood volume on thermoregulation and exercise performance in the heat. *Exercise and Sport Science Reviews* **27**,.

Scott, G. R. and Dawson, N. J. (2017). Flying high: The unique physiology of birds that fly at high altitudes. In *The Biology of the Avian Respiratory System: Evolution, Development, Structure and Function*, pp. 113–127. Springer International Publishing.

Snyder, G. K. and Sheafor, B. A. (1999). *Red Blood Cells: Centerpiece in the Evolution of the Vertebrate Circulatory System 1*.

Srere, P. A. (1969). *Citrate Synthase*. ~W. Buckel and H. Eggerer.

Staples, J. F. (2014). Metabolic suppression in mammalian hibernation: The role of mitochondria. *Journal of Experimental Biology* **217**, 2032–2036.

Staples, J. F. (2016). Metabolic flexibility: Hibernation, torpor, and estivation. *Compr. Physiol.* **6**, 737–771.

Stier, A., Bize, P., Schull, Q., Zoll, J., Singh, F., Geny, B., Gros, F., Royer, C., Massemin, S. and Criscuolo, F. (2013). Avian erythrocytes have functional mitochondria, opening novel perspectives for birds as animal models in the study of ageing. *Front. Zool.* **10**,.

Stier, A., Romestaing, C., Schull, Q., Lefol, E., Robin, J. P., Roussel, D. and Bize, P. (2017). How to measure mitochondrial function in birds using red blood cells: a case study in the king penguin and perspectives in ecology and evolution. *Methods Ecol. Evol.* **8**, 1172–1182.

Storey, K. B. and Storey, J. M. (1990). *Metabolic Rate Depression and Biochemical Adaptation in Anaerobiosis, Hibernation and Estivation*.

Storey, K. B. and Storey, J. M. (2004). Metabolic rate depression in animals: Transcriptional and translational controls. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **79**, 207–233.

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

Toledo, L. F., Brito, S. P., Milsom, W. K., Abe, A. S. and Andrade, D. V. (2008). Effects of season, temperature, and body mass on the standard metabolic rate of tegu lizards (Tupinambis merianae). *Physiological and Biochemical Zoology* **81**, 158–164.

Troiano, J. C., Gould, E. G. and Gould, I. (2008). Hematological reference intervals in argentine lizard Tupinambis merianae (Sauria-Teiidae). *Comp. Clin. Path.* **17**, 93–97.

Tyuma, I. (1984). *The Bohr Effect and the Haldane Effect in Human Hemoglobin*.

Udroiu, I. (2020). Evolution of Red Blood Cells in Extant and Extinct Tetrapods. *Paleontological Journal* **54**, 1434–1442.

Van Dyke, J. U. and Beaupre, S. J. (2011). Bioenergetic components of reproductive effort in viviparous snakes: Costs of vitellogenesis exceed costs of pregnancy. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology* **160**, 504–515.

Ventura-Clapier, R., Garnier, A. and Veksler, V. (2008). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: The central role of PGC-1α. *Cardiovasc. Res.* **79**, 208–217.

Vézina, F. and Williams, T. D. (2003). Plasticity in Body Composition in Breeding Birds: What Drives the Metabolic Costs of Egg Production? *Physiological and Biochemical Zoology* **76**, 716–730.

Vézina, F. and Williams, T. D. (2005). *Interaction between organ mass and citrate synthase activity as an indicator of tissue maximal oxidative capacity in breeding European Starlings: implications for metabolic rate and organ mass relationships*.

Vieira De Andrade, D. (2016). *Temperature effects on the metabolism of amphibians and reptiles: Caveats and recommendations*.

Villolobos, M., León, P., Sessions, S. K. and Kezer, J. (1988). *Enucleated Erythrocytes in Plethodontid Salamanders*.

Vitt, L. J., Sartorius, S. S., Avila-Pires, T. C. S., Espósito, M. C. and Miles, D. B. (2000). Niche segregation among sympatric Amazonian teiid lizards. *Oecologia*.

Weber, R. E. and Fago, A. (2004). Functional adaptation and its molecular basis in vertebrate hemoglobins, neuroglobins and cytoglobins. In *Respiratory Physiology and Neurobiology*, pp. 141–159.

Weber, R. E., Campbell, K. L., Fago, A., Malte, H. and Jensen, F. B. (2010). ATP-induced temperature independence of hemoglobin-O2 affinity in heterothermic billfish. *Journal of Experimental Biology* **213**, 1579–1585.

Wells, R. M. G. (1999). Evolution of haemoglobin function: Molecular adaptations to environment. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **26**, 591–595.

White, C. R. and Kearney, M. R. (2013). Determinants of inter-specific variation in basal metabolic rate. *J. Comp. Physiol. B* **183**, 1–26.

Winck, G. R. and Cechin, S. Z. (2008). Hibernation and emergence pattern of Tupinambis merianae (Squamata: Teiidae) in the Taim Ecological Station, southern Brazil. *J. Nat. Hist.* **42**, 239–247.

Winck, G. R., Blanco, C. C. and Cechin, S. Z. (2011). Population ecology of Tupinambis merianae (Squamata, Teiidae): Home-range, activity and space use. *Animal Biology* **61**, 493–510.

Wood, S. C. and Johansen, K. (1973). *ORGANIC PHOSPHATE METABOLISM IN NUCLEATED RED CELLS: INFLUENCE OF HYPOXIA ON EEL HbO2 AFFINITY* by*.

Yap, K. N. and Zhang, Y. (2021). Revisiting the question of nucleated versus enucleated erythrocytes in birds and mammals. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **321**, R547–R557.

Zena, L. A., Dantonio, V., Gargaglioni, L. H., Andrade, D. V., Abe, A. S. and Bícego, K. C. (2016). Winter metabolic depression does not change arterial baroreflex control of heart rate in the tegu lizard Salvator merianae. *Journal of Experimental Biology* **219**, 725–733.

Zena, L. A., Dillon, D., Hunt, K. E., Navas, C. A., Bícego, K. C. and Buck, C. L. (2019). Seasonal changes in plasma concentrations of the thyroid, glucocorticoid and reproductive hormones in the tegu lizard Salvator merianae. *Gen. Comp. Endocrinol.* **273**, 134–143.

Zena, L. A., Dillon, D., Hunt, K. E., Navas, C. A., Buck, C. L. and Bícego, K. C. (2020). Hormonal correlates of the annual cycle of activity and body temperature in the South-American tegu lizard (Salvator merianae). *Gen. Comp. Endocrinol.* **285**,.

Zhao, R. Z., Jiang, S., Zhang, L. and Yu, Z. Bin (2019). Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int. J. Mol. Med.* **44**, 3–15.