

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**CONSUMO DE AMIDO OU GORDURA SOBRE A
DIGESTIBILIDADE, METABOLISMO ENERGÉTICO E
SAÚDE DE JABUTIS (*Chelonoidis carbonaria*)**

**Ludmilla Geraldo Di Santo
Médica Veterinária**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONSUMO DE AMIDO OU GORDURA SOBRE A
DIGESTIBILIDADE, METABOLISMO ENERGÉTICO E
SAÚDE DE JABUTIS (*Chelonoidis carbonaria*)**

Discente: Ludmilla Geraldo Di Santo

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária, Área: Clínica Médica Veterinária.

S237c Santo, Ludmilla Geraldo Di
Consumo de amido ou gordura sobre a digestibilidade, metabolismo energético e saúde de jabutis (*Chelonoidis carbonaria*) / Ludmilla Geraldo Di Santo. -- Jaboticabal, 2021
111 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, Jaboticabal
Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

1. Nutrição animal. 2. Distúrbios da nutrição em animais. 3. Metabolismo energético. 4. Lipoproteínas plasmáticas. 5. Biópsia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CONSUMO DE AMIDO OU GORDURA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, METABOLISMO ENERGÉTICO E SAÚDE DE JABUTIS (*Chelonoidis carbonaria*)

AUTORA: LUDMILLA GERALDO DI SANTO

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

Aulus Carciofi
Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Professor Associado CARLOS EDUARDO DO PRADO SAAD (Participação Virtual) p/ *Aulus Carciofi*
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Lavras/MG

Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE (Participação Virtual) p/ *Aulus Carciofi*
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profª. Drª. LILIAN ROSE MARQUES DE SÁ (Participação Virtual) p/ *Aulus Carciofi*
Departamento de Patologia / FMVZ - USP - São Paulo, SP

Profa. Dra. KÊNIA CARDOSO BÍCEGO (Participação Virtual) p/ *Aulus Carciofi*
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 25 de junho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUDMILLA GERALDO DI SANTO – Nascida em 19 de setembro de 1989, em Ribeirão Preto – SP. Graduada em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Câmpus de Jaboticabal em fevereiro de 2014. Em 2013, foi estagiária curricular no Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé – AM, onde realizou o trabalho de conclusão de curso com o manejo clínico e nutricional dos filhotes de peixe-boi amazônico. Concluiu o Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, área Clínica Médica Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) em 2016 na área Nutrição de Cães, Gatos e Animais Selvagens, sob orientação do professor doutor Aulus Cavalieri Carciofi. Em março de 2017 ingressou no Programa de Doutorado em Medicina Veterinária, área Clínica Médica Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) na área Nutrição de Cães, Gatos e Animais Selvagens, sob orientação do professor doutor Aulus Cavalieri Carciofi.

Dedica

**Aos meus pais Tereza G. Di Santo e Antonio Nuncio Di Santo,
à minha irmã Nathália G. Di Santo,
ao meu companheiro Lucas B. Braos e nossa filha Laura.**

AGRADECIMENTOS

À minha família, minha eterna gratidão pelo companheirismo, amor e paciência nos momentos de angústia. Pai, mãe e Nathy, a finalização do meu doutorado só foi possível mediante apoio de vocês na minha recuperação e retorno às atividades. Mãe, agradeço por você ser essa força que sustenta a nossa família e que me manteve de pé após o acidente! Obrigada pai, por ser o engenheiro da casinha dos jabutis e estar ao meu lado sempre, me orientando nos assuntos da vida e até mesmo na construção das baias! Nathy, agradeço o exemplo de pessoa e profissional! Amo vocês incondicionalmente e serei eternamente grata por tê-los ao meu lado!

Ao meu companheiro, Lucas, por estar ao meu lado em todos os momentos me apoiando e incentivando a continuar minha caminhada. Agradeço por me ajudar na execução do meu experimento e nas crises existenciais do meu doutorado. Por estar ao meu lado na minha recuperação, compartilhando o seu amor personificado na nossa bebê que em breve irá chegar!

Ao meu orientador, Prof. Aulus Cavalieri Carciofi, pela oportunidade de aprendizado durante esses 7 anos. Agradeço por aceitar o desafio de reabrir a linha de pesquisa em nutrição de animais selvagens desde o meu mestrado e me fornecer estrutura para crescer profissionalmente.

Ao Luiz Sanfilippo, pela amizade e ensinamentos. Por ter contribuído com a minha formação e por ter sido meu parceiro nas viagens à Trijunção e na seleção dos jabutis do meu experimento.

Aos estagiários dos jabutis, em especial a Harumi, Isaura, Camila F. e Beatriz, por aceitarem o desafio de desbravar o mundo dos jabutis fazendo parte dos meus dias no laboratório, auxiliando no manejo e coletas. Muito obrigada pelo carinho com os animais e pelas conversas neste longo período.

À Aline Kawanami e Juliana Paula, pela disponibilidade em me auxiliar em mais uma empreitada compartilhando tempo e conhecimento. Vocês são referências para mim na Clínica de Animais Selvagens!

À Maria Eduarda Moutinho e Daniela, por aceitarem o desafio de realizar a biópsia nos jabutis, me acompanhando sempre de bom humor nas longas jornadas de trabalho.

Às companheiras de laboratório, Fer, Carol, Amanda, Lê Pacheco, Camila, que fizeram parte da equipe de trabalho nas mais diversas coletas do doutorado. Vocês são a base do trabalho e fizeram das coletas um momento mais leve!

Aos parceiros, Prof. Eduardo Ferrioli e sua equipe, Daniela e Meire (USP-Ribeirão Preto), Prof. Wladimir (Unesp-Botucatu), a técnica Valéria Sutti Nunes (Laboratório de Lípidos, USP-SP) por abrirem seus laboratórios e permitirem a realização das minhas análises. Especialmente, à Profa. Lilian Sá (FMVZ, USP-SP) pelo imenso apoio nas avaliações histopatológicas e interpretação dos dados. Agradeço o carinho e a paciência durante as dificuldades advindas com a pandemia!

Ao Prof. Carlos Teixeira (CEMPAS, Unesp – Botucatu) e ao Médico Veterinário César, representando o Zoológico e Bosque Municipal “Fábio Barreto”, por gentilmente cederem os jabutis do meu estudo.

Aos jabutis, meus companheiros de 2 anos de trabalho que colaboraram para que meu estudo fosse realizado e que me ensinaram a ser resiliente.

Aos amigos do laboratório que levarei para toda vida, Carol, Fer, Amanda, Letícia Pacheco, Mayara Peixoto, Bruna Agy e Aninha, por todo conhecimento, pela ajuda nos meus experimentos de mestrado e doutorado, pelas conversas e momentos felizes. Em especial, a Carol, Thomaz, Fer e Amanda, que me apoiaram incondicionalmente na minha recuperação física e mental para o retorno ao doutorado. O meu muito obrigado pelas risadas e “gordices”!

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos, Elaine, Kelly, Diego e Claudinha, pela amizade, conversas e conselhos que tornaram os dias no laboratório mais alegres. Especialmente, ao Diego pela parceria nas “engenhocas” para a realização do meu experimento e a Claudinha pela paciência e ensinamentos durante as análises laboratoriais.

Aos funcionários da Fábrica de Rações, Lucas e Helinho (*in memoriam*), pelo companheirismo e pelas risadas nos tão difíceis e pesados “dias de fábrica”.

Aos colegas que passaram pelo laboratório e que de alguma forma contribuíram com a minha formação profissional e pessoal. Em especial, a Pierina, que auxiliou no manejo e em algumas coletas do experimento.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal por ser a minha segunda casa durante 12 anos permitindo o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo nº 2017/24585-9) por financiar a minha bolsa de estudos custeando a minha permanência em Jaboticabal durante o período do doutorado.

Agradeço ao CNPq (Processo nº 870930/1999-0) por financiar parte da minha bolsa de estudo do doutorado.

SUMÁRIO

	Página
DOCUMENTAÇÕES E AUTORIZAÇÕES	iii
Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA)	iii
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO	iv
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
CONSUMO DE AMIDO OU GORDURA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, METABOLISMO ENERGÉTICO E SAÚDE DE JABUTIS (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Jabutis-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>): distribuição e conservação	2
2.2. Dieta e aspectos morfofisiológicos do trato digestório	3
2.3. Alterações no metabolismo energético de jabutis em cativeiro	5
2.4. Lipidose hepática: uma das principais desordens metabólicas de jabutis em cativeiro	7
2.5. Parâmetros hematológicos e bioquímicos	9
2.5.1. Lipoproteínas plasmáticas e o metabolismo de lipídios	12
2.6. Metabolismo energético	13
2.6.1. Calorimetria indireta	14
2.6.2. Água duplamente marcada	16
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. Delineamento experimental	18
4.2. Animais, recintos e manejo	19
4.3. Dietas experimentais	21
4.4. Protocolos experimentais	24
4.4.1. Avaliação morfométrica dos jabutis	24

4.4.2. Teste de preferência alimentar	25
4.4.3. Tempo de trânsito gastrointestinal	26
4.4.4. Ensaio de digestibilidade aparente dos nutrientes e análises químicas	26
4.4.5. Produtos de fermentação microbiana e parâmetros de qualidade das fezes	28
4.4.6. Análises hematológicas e de bioquímica sérica	30
4.4.6.1. Análise das lipoproteínas plasmáticas	31
4.4.7. Biópsia e avaliação histológica do tecido hepático	32
4.4.8. Composição corporal por absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA)	35
4.4.9. Análise do metabolismo energético	36
4.4.9.1. Água duplamente marcada	36
4.4.9.2. Calorimetria indireta	39
4.5. Forma de análise dos resultados	41
5. RESULTADOS	42
5.1. Digestibilidade aparente dos nutrientes, ensaio de tempo de trânsito gastrointestinal e produtos de fermentação microbiana	42
5.2. Teste de preferência, consumo, peso corporal e mensurações morfométricas	45
5.3. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos	50
5.3.1. Avaliação das lipoproteínas plasmáticas por cromatografia líquida	56
5.4. Biópsia e avaliação histopatológica do tecido hepático	59
5.5. Composição corporal pelo DEXA	66
5.6. Análise do metabolismo energético pela água duplamente marcada ...	66
5.7. Análise do metabolismo energético por calorimetria indireta	68
6. DISCUSSÃO	71
7. CONCLUSÕES	86
8. REFERÊNCIAS	87
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
APÊNDICES	106

DOCUMENTAÇÕES E AUTORIZAÇÕES
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL (CEUA)



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Consumo de amido ou gordura sobre a digestibilidade, metabolismo energético e saúde de jabutis (*Chelonoidis carbonaria*)**", protocolo nº 016720/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, 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 31 de outubro de 2017.

Vigência do Projeto	30/11/2017 a 30/11/2019
Espécie / Linhagem	<i>Chelonoidis carbonaria</i>
Nº de animais	60
Peso / Idade	~10kg
Sexo	Ambos
Origem	CEMPAS, Unesp Botucatu e Bosque Municipal Fábio Barreto, Ribeirão Preto/SP

Jaboticabal, 31 de outubro de 2017.


Profª Drª Lizandra Amoroso
 Coordenadora – CEUA

SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE - SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60562-1	Data da Emissão: 11/10/2017 10:17	Data para Revalidação*: 10/11/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Ludmilla Geraldo Di Santo	CPF: 329.529.408-94
Título do Projeto: Consumo de amido ou gordura sobre a digestibilidade, metabolismo energético e saúde de jabutis (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Avaliação dos animais e transporte p/ Unesp Jaboticabal	11/2017	01/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Os exemplares do jabuti <i>Chelonoidis carbonaria</i> , a serem utilizados no estudo-objeto da presente Autorização ICMBio/SISBio, serão oriundos de condição ex situ, notadamente dos plantéis dos criadouros: 1) CEMPAS/UNESPS de Botucatu/SP; 2) Bosque Municipal Fábio Barreto, de Ribeirão Preto/SP.
---	---

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	LUIZ FRANCISCO SANFILIPPO	auxílio no transporte dos animais e coletas de amostras	126.632.888-29	17031631 SSP-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 22247581



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 60562-1	Data da Emissão: 11/10/2017 10:17	Data para Revalidação*: 10/11/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Ludmilla Geraldo Di Santo	CPF: 329.529.408-94
Título do Projeto: Consumo de amido ou gordura sobre a digestibilidade, metabolismo energético e saúde de jabutis (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	JABOTICABAL	SP	Jaboticabal	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	<i>Chelonoidis carbonaria</i>
2	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	<i>Chelonoidis carbonaria</i>

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Répteis)	Fezes, Fragmento de tecido/órgão, Sangue
2	Método de captura/coleta (Répteis)	Captura manual, Coleta manual
3	Método de marcação (Répteis)	Lacre, Microchip

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNESP JABOTICABAL	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 22247581



Página 2/3

CONSUMO DE AMIDO OU GORDURA SOBRE A DIGESTIBILIDADE, METABOLISMO ENERGÉTICO E SAÚDE DE JABUTIS (*Chelonoidis carbonaria*)

RESUMO - Jabutis são répteis que, em cativeiro, comumente apresentam desordens metabólicas como a lipidose hepática, em decorrência de dietas desbalanceadas e com elevado teor energético. O presente estudo teve como objetivo avaliar os parâmetros nutricionais, metabolismo energético e relacionados à saúde geral com enfoque no tecido hepático de jabutis adultos alimentados com rações extrusadas com elevados teores de amido ou gordura comparadas com dieta Controle contendo alta fibra. Foram utilizados 44 jabutis adultos, machos e fêmeas, distribuídos em três rações extrusadas (Controle, Amido e Gordura), totalizando 15 repetições (jabutis) por tratamento, exceto na dieta Amido (14 jabutis) devido ao óbito de um animal durante a adaptação. O período experimental teve duração de 19 meses, e incluiu: coleta de sangue para análises bioquímicas, do metabolismo de gordura e hematológicas nos dias 4 (basal), 183 e 369 (final); biopsia hepática em 18 jabutis para avaliação histopatológica basal (dias 1 a 3) e final (366 a 368); avaliação da preferência alimentar nos dias 5 a 19 (avaliação individual) e 575 a 587 (avaliação coletiva); avaliação do tempo de trânsito gastrointestinal, ensaio de digestibilidade e determinação de ácidos graxos voláteis, lactato, amônia e pH fecal (dia 120 a 270); determinação do gasto energético de repouso por respirometria (dias 423 ao 437); avaliação do gasto energético diário, composição de água corporal e fluxo de água corporal pelo método da água duplamente marcada - DLW (dias 60 a 75 – basal; dias 447 ao 469 - final); determinação da composição corporal pelo DEXA (dias 366 a 368) e dos teores de lipoproteínas plasmáticas (dias 572 a 573). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, amido, extrato etéreo e da energia foi maior na dieta Amido ($P < 0,0001$), sendo que o extrato etéreo foi em grande parte eliminado nas fezes. Os produtos de fermentação intestinal microbiana não diferiram entre as dietas experimentais ($P > 0,05$), mas apresentaram valores abaixo ao encontrado em répteis herbívoros fermentadores como a iguana. O consumo de fibra digestível foi maior na dieta Controle, de amido digestível na dieta Amido e de

extrato etéreo digestível na Gordura ($P < 0,05$), mas não houve diferenças quanto a energia digestível. Todos esses fatores culminaram no crescimento do animal e ganho de peso ao longo do período experimental, sendo semelhante entre as dietas. Parâmetros hematológicos e de bioquímica sérica encontram-se dentro dos valores de referência, em geral, não houve efeito de dieta ($P > 0,05$), mas sim de sexo e período ($P < 0,05$). A ração Amido proporcionou maiores teores nas enzimas hepáticas e nos valores de colesterol sérico, lipoproteínas HDL e LDL para os machos. As lipoproteínas mantiveram o padrão de composição de colesterol e triglicerídeos semelhantes ao encontrados em mamíferos e foram influenciadas pela vitelogenese das fêmeas. Apesar do baixo aproveitamento do extrato etéreo, a ração Gordura proporcionou maiores teores de VLDL carreadoras de triglicerídeos e colesterol nas fêmeas, acompanhada por elevadas concentrações totais de triglicérides ($P < 0,05$). Já a fração LDL colesterol e triglicérides teve elevações vinculadas ao consumo da dieta Controle. Ao exame histopatológico houve redução na esteatose hepática, mas alterações como hemossiderose, aumento em melanomacrófagos e deposição de lipofucsina foram presentes nas amostras do período final. Houve efeito de dieta na presença de lipofucsina com esta em menor grau na dieta Amido ($P = 0,021$). Composição corporal avaliada pelo DEXA indicou menor densidade mineral óssea e conteúdo mineral nas fêmeas, além de apresentar maior massa magra ($P < 0,001$). Ao utilizar DLW, não houve efeito da dieta na avaliação da composição corporal. A produção de CO_2 e o gasto energético foram maiores no período basal ($P < 0,05$) por influência da temperatura ambiental mais elevada acrescida do maior peso corporal. O fluxo de água corporal foi constante independente de dieta e período ($P > 0,05$). O gasto energético pela calorimetria indireta, foi semelhante entre as dietas e menor ao encontrado pela DLW. Como a gordura da dieta foi eliminada nas fezes em quase sua totalidade não houve efeito desse substrato nos parâmetros de saúde e metabolismo. A manutenção da composição corporal independente de dieta proporcionou gasto energético com restrição de atividade, ao início do período digestivo, de $9,68 \pm 1,04$ kJ/kg/dia e ao considerar os animais sob atividade muscular e reprodutiva de $22,86 \pm 2,30$ kJ/kg/dia.

Palavras-chave: ácidos graxos voláteis, biópsia hepática, gasto energético, lipoproteínas plasmáticas, nutrição animal, répteis

STARCH OR FAT INTAKE EFFECTS ON DIGESTIBILITY, ENERGY METABOLISM AND HEALTH OF TORTOISES (*Chelonoidis carbonaria*)

ABSTRACT - Tortoises are reptiles that, in captivity, commonly exhibit metabolic disorders such as hepatic lipidosis, due to unbalanced diets with high energy content. The present study had as objectives to evaluate the nutritional parameters, energy metabolism and general health with emphasis on the hepatic tissue of adult red-footed-tortoises fed with three extruded feeds with high levels of starch or fat, compared to the control diet containing high levels of fiber. Forty-four adults tortoises were used, males and females, distributed in three extruded feeds (Control, Starch and Fat), totalizing 15 repetitions (tortoises) per treatment, except for the Starch diet (14 tortoises) because one animal died during the adaptation period. The experimental period lasted 19 months, and included: blood samples collection for biochemical, fat metabolism and hematologic analysis on day 4 (baseline), 183 and 369 (final); hepatic biopsy of 18 tortoises for histopathologic evaluation at days 1 to 3 (baseline) and at days 366 to 368 (final); evaluation of feed preferences of the experimental feeds at days 5 and 19 (individual evaluation) and at days 575 and 587 (collective evaluation); evaluation of gastrointestinal transit time, digestibility assay, and volatile fatty acids, lactate, ammonia and faeces pH (days 120 to 270); resting energy expenditure determination by respirometry (days 423 to 437); determination of daily energy expenditure, body water composition and body water flux using the double labelled water – DLW (baseline: days 60 to 75; final: days 447 to 469); determination of body composition using DEXA (days 366 to 368) and levels of plasmatic lipoproteins (days 572 to 573). Data was submitted to analysis of variance and means compared by Tukey's test ($P < 0,05$). Dry matter, organic matter, starch, ether extract and energy digestibility were higher in the Starch diet ($P < 0,0001$), wherein the fat was not well used and most of it was eliminated in the faeces. The microbial intestinal fermentation products were similar among the diets ($P > 0,05$), but presented lower values than ruminants and other fermentative herbivorous reptiles such as iguanas. The intake of digestible fiber was higher in Control diet, digestible starch in Starch diet and fat in the Fat diet ($P < 0,05$), but there were no differences regarding the digestible energy. All these factors culminated in the animal's growth and weight gain throughout the

experimental period, being similar among diets. The haematological and serum biochemistry parameters were within the reference values, overall, there was no effect of diet, but of sex and period ($P>0,05$). The Starch diet provided higher levels of hepatic enzymes and serum cholesterol, HDL, and LDL lipoproteins for the males. The lipoproteins maintained the pattern of cholesterol and triglyceride composition like those found in mammals and were influenced by vitellogenesis of females. Despite the low utilization of fat, the Fat diet resulted in higher levels of VLDL carrier of triglycerides and cholesterol in the females, followed by higher total concentration of triglycerides ($P<0,05$). Regarding the cholesterol and triglycerides LDL fraction, there was an increase linked to the consumption of the Control diet. The histopathological evaluation made possible to verify a decrease in the hepatic steatosis, but alterations, such as hemosiderosis, increase in melanomacrophages and lipofuscin deposition increased in the final period samples. There was diet effect regarding the presence of lipofuscin, having a lesser extent in the Starch diet ($P=0,021$). The body composition evaluated by DEXA shown lower bone mineral density and mineral content in females, in addition to presenting greater lean mass ($P<0,001$). In the DLW analysis, there was no effect of the diet on the assessment of body composition. The CO_2 production and energy expenditure were higher at baseline ($P<0,05$) due to the higher environmental temperature associated with greater body weight. The body water flux was constant regardless the diet or period ($P>0,05$). The energy expenditure, accessed by the indirect calorimetry, was similar among diets, but it was lower compared to DLW. As the diet fat was eliminated in the faeces almost in its totality, there was no effect of this substrate on health and metabolism parameters. The maintenance of body composition, regardless of diet, provided an energy expenditure, with activity restriction and at the beginning of the digestive period, of $9,68\pm 1,04$ kJ/kg/day, and, when considering the animal under muscular and reproductive activity, of $22,86\pm 2,30$ kJ/kg/day.

Keywords: volatile fatty acids, liver biopsy, energy expenditure, animal nutrition, reptiles, plasmatic lipoproteins

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Valores de referências dos parâmetros hematológicos e bioquímicos propostos para jabutis-piranga	10
Tabela 2.	Fórmula das rações para jabutis em manutenção empregadas no estudo	22
Tabela 3.	Parâmetros do processo de extrusão e macroestrutura dos kibbles das dietas experimentais (Média ± Desvio Padrão)	23
Tabela 4.	Composição química analisada das rações experimentais para jabutis empregadas no estudo (resultados médios ± desvio padrão dos três lotes produzidos)	28
Tabela 5.	Parâmetros e escores de avaliação histopatológica de lesões hepáticas em jabutis (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	34
Tabela 6.	Coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes das rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média)	43
Tabela 7.	Tempo de trânsito gastrointestinal e tempo de recuperação máximo do marcador, parâmetros de qualidade fecal e concentração de produtos de fermentação microbiana nas fezes de jabutis alimentados com as rações experimentais (média ± erro padrão da média)	44
Tabela 8.	Teste de preferência alimentar individual e por recinto, e avaliação da primeira ingestão dos jabutis frente às dietas experimentais	45
Tabela 9.	Consumo de nutrientes digestíveis e peso corporal durante o período experimental (Média ± Erro Padrão da Média)	47
Tabela 10.	Morfometria dos jabutis alimentados com as dietas experimentais ao longo do período experimental. (Média ± Erro Padrão da Média)	50

Tabela 11.	Parâmetros hematológicos dos jabutis ao longo de 12 meses de consumo das rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média)	51
Tabela 12.	Parâmetros bioquímicos dos jabutis ao longo de 12 meses de consumo das rações experimentais	54
Tabela 13.	Perfil lipídico sérico de jabutis-piranga alimentados por 12 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média)	56
Tabela 14.	Perfil de lipoproteínas plasmáticas determinados por cromatografia líquida de jabutis alimentados por 18 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média)	58
Tabela 15.	Avaliação histopatológica (escores de 0 a 3) dos fragmentos de tecido hepático no período basal e após 365 dias de consumo das dietas experimentais (escore da lesão seguido da frequência de distribuição dentro destes)	61
Tabela 16.	Composição corporal dos jabutis alimentados com as rações experimentais por 12 meses. Valores analisados por absorciometria de raios-X de dupla energia -DEXA (Média \pm Erro Padrão da Média)	66
Tabela 17.	Peso e composição corporal, produção de CO ₂ e gasto energético diário de jabutis-piranga alimentados por 12 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média)	67
Tabela 18.	Temperatura interna nas câmaras de respirometria, peso corporal, consumo alimentar, produção de CO ₂ , consumo de O ₂ e produção de calor de jabutis-piranga alimentados com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média)	69
Tabela 19.	Determinação do gasto energético usando coeficientes que consideram o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono (Média \pm Erro Padrão da Média)	70

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Estrutura geral dos três recintos experimentais	20
Figura 2.	Temperatura e umidade ambiental média nos recintos durante o período experimental	21
Figura 3.	Avaliações morfométricas dos jabutis durante o período experimental	25
Figura 4.	Classificação do escore fecal de jabutis alimentados com as rações experimentais	29
Figura 5.	Consumo médio das rações experimentais verificado nos recintos ao longo do experimento.....	46
Figura 6.	Temperatura mínima, média e máxima e consumo médio das rações experimentais (média de Controle, Amido e Gordura; g MS/kg/dia) ao longo do experimento	47
Figura 7.	Peso corporal médio dos jabutis alimentados com as rações experimentais ao longo do período experimental	49
Figura 8.	Perfil das lipoproteínas plasmáticas de jabutis adultos, machos e fêmeas	57
Figura 9.	Distribuição porcentual de colesterol e triglicerídeos dentro das frações de lipoproteínas dos jabutis alimentados com as rações experimentais	59
Figura 10.	Aspecto macroscópico do fígado avaliado durante a biópsia	60
Figura 11.	Características histopatológicas do tecido hepático dos jabutis no período basal	63
Figura 12.	Características histopatológicas do tecido hepático dos jabutis no período final	65

1. INTRODUÇÃO

Comumente criados como pet, a espécie *Chelonoidis carbonaria*, conhecida como jabuti-piranga, compõe juntamente com os jabutis-tinga (*Chelonoidis denticulata*) os únicos representantes brasileiros da família Testudinidae. Em vida livre ocupam principalmente áreas de campo aberto sendo encontrados em quase todos os biomas. São animais monogástricos, herbívoros generalistas e em seu habitat apresentam dieta com ampla variação temporal e espacial, composta majoritariamente de folhas, frutos e flores (Bjorndal, 1989; Almeida, 2011; Wang et al., 2011).

A diversificação da dieta e a ingestão de alimentos com baixo valor nutricional são acompanhados por especificidades fisiológicas e morfológicas do trato gastrointestinal que permitem melhor aproveitamento do alimento. Dentre estas pode-se destacar longos períodos de retenção da ingesta (200 a 300 horas), acompanhados pelo peristaltismo reverso intestinal permitindo melhor digestão enzimática e fermentação microbiana do material ingerido (Fritz et al., 2010). A elevada capacidade fermentativa no intestino grosso, com elevada contribuição energética, também é aspecto importante considerando a elevada ingestão de componentes de parede celular em um animal monogástrico.

Todos esses parâmetros digestivos são modulados pela composição da dieta e pelas condições climáticas ambientais, uma vez que os jabutis são animais ectotérmicos. Essa característica está associada a baixas taxas metabólicas, com baixa necessidade energética e a possibilidade de espaçamento na frequência de alimentação, quando comparado aos mamíferos, o que pode gerar equívocos no manejo nutricional em cativeiro. Destaca-se ainda, que devido ao desconhecimento de suas necessidades nutricionais é comum o fornecimento de dietas desbalanceadas, com baixos teores de fibra e elevado conteúdo energético, dieta esta distinta à encontrada em vida-livre (Carciofi and Oliveira 2007).

Apesar da escassez de estudos sobre o metabolismo energético de jabutis, especialmente para as espécies tropicais, em Testudinidae, parece haver menor gasto energético por quilograma de peso corporal em comparação aos demais répteis

herbívoros (Jodice et al., 2006), podendo acentuar ainda mais os desbalanços energético na dieta oferecida em cativeiro. Como já demonstrado em mamíferos, aves e peixes, a ingestão de dietas com elevados teores de gordura, promove uma sobrecarga na lipogênese de forma a exceder a capacidade de metabolização dos lipídeos por meio da síntese e secreção de lipoproteínas, promovendo acúmulo em tecido hepático (Yan et al. 2015; Visscher et al. 2017).

Especula-se ainda que, para jabutis, assim como nos peixes, o consumo de amido altamente gelatinizado, presente em abundância na dieta comumente fornecida em cativeiro a base de ração de cães, frutas e verduras, estimule as vias lipogênicas. Por questões fisiológicas adaptativas, em jabutis, a lipogênese a partir da glicose resulta na deposição de 2 a 27 vezes mais lipídeos no fígado do que nos adipócitos (Marschall e Gist, 1973; Price, 2017), propiciando o surgimento de alterações de cunho nutricional, como a lipidose hepática.

É possível que maior atividade fermentativa no intestino grosso com produção de ácidos graxos de cadeia curta, associada a menor aporte de glicose advinda da digestão e absorção de amido possa reduzir a lipogênese, especialmente no tecidos hepáticos (Polakof et al., 2012) diminuindo a possibilidade de distúrbios do metabolismo de lipídeos. A menor ingestão de gordura, por sua vez, irá reduzir a sobrecarga no metabolismo de lipídeos contribuindo com manutenção de níveis fisiológicos de gordura hepática. Dessa forma, dieta com maior teor de fibra e menores proporções de amido ou gordura, beneficiaram o metabolismo energético, reduzindo a massa gorda corporal e melhorando a saúde dos jabutis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*): distribuição e conservação

Das 760 espécies que compõem a ordem dos répteis, os jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e tinga (*Chelonoids denticulata*) são os únicos representantes brasileiros da família Testudinidae (Bérnils e Costa, 2015). O jabuti-piranga está distribuído em diversos países da América do Sul e no Brasil ocupa quase todos os biomas (Amazônia, Cerrado, Pantanal, Caatinga e Mata Atlântica). É uma espécie versátil, encontrada preferencialmente em áreas de campo aberto e savana

(frequência de ocorrência de 81%), podendo também ocupar florestas tropicais (ocorrência de 42%) (Jerozolimski, 2005).

Apesar de na maioria dos biomas brasileiros não estarem em risco de extinção, a degradação do seu habitat, a caça e a exploração ilegal para comércio desses animais podem ser fatores impactantes na sua conservação a médio e longo prazo. Já no estado de São Paulo, as populações de jabutis-piranga atingiram tamanho crítico sendo classificados como ameaçados de extinção (Martins e Molina, 2018).

A manutenção das populações nativas de jabutis é importante para a biodiversidade florestal. Em torno de 26 gêneros e 15 famílias de angiospermas foram identificadas nas fezes de jabutis com ampla área de deslocamento, demonstrando a contribuição na dispersão de sementes, sendo esta considerada similar ao papel de aves e mamíferos, que são os principais agentes dispersores (Jerozolimski, 2005; Strong e Fragoso, 2006).

Uma forma de manter a população e resguardar a espécie é sua manutenção legal em cativeiro, associado a programas de reprodução e reintrodução. No entanto, para que isso ocorra adequadamente faz-se necessário conhecer as particularidades anatomo-fisiológicas, manejo reprodutivo e suas necessidades nutricionais, de modo a se fornecer dietas nutricionalmente balanceadas (Oftedal e Allen, 1996). Além disso, jabutis-piranga são tradicionalmente mantidos como pet no Brasil o que reitera a importância de mais estudos sobre o manejo alimentar da espécie quando em cativeiro.

O manejo e a nutrição inadequados estão entre as principais causas de doenças em répteis cativos, sendo pontos importantes para sua conservação (Paranzini et al., 2008). Animais mal nutridos são propensos a desenvolver desordens reprodutivas, como a infertilidade e retenção de ovos, sendo ponto essencial nos programas de conservação da espécie (Innis e Boyer, 2002), além de desenvolverem inúmeras doenças nutricionais e infecciosas que limitam sua qualidade de vida e longevidade (Oftedal e Allen, 1996; Boyer e Scott, 2019).

2.2. Dieta e aspectos morfofisiológicos do trato digestório

Com relação à alimentação natural dos jabutis-piranga, sabe-se que estes apresentam hábito alimentar herbívoro generalista, sendo a sua dieta influenciada pela disponibilidade do alimento (Bjorndal, 1989; Wang et al., 2011). Diante desta

particularidade, apresentam importante consumo de frutos, flores e folhas, que representam, respectivamente, 46,7%, 26,5% e 12,9% da sua dieta (Bjorndal, 1989; Almeida, 2011; Wang et al., 2011). Em áreas de floresta tropical, a diversidade alimentar encontrada nas fezes de jabutis-piranga abrange majoritariamente estruturas vegetativas de plantas, frutos, sementes, fungos, e também vertebrados e invertebrados, estes dois últimos com maior importância para os animais jovens (Jerozolinski, 2005; Moskovits e Bjorndal, 1990).

A diversificação da dieta, tanto para jabutis-piranga (*C. carbonaria*) quanto para jabutis-tinga (*C. denticulata*), está associada à estação do ano e conseqüentemente a disponibilidade dos itens alimentares. Assim, por exemplo, 30% da dieta pode ser composta por flores na estação seca e 70% por frutos durante a estação chuvosa (Moskovits e Bjorndal, 1990). Para estas duas espécies, a dieta apresenta como principal composição itens ricos em parede celular, com baixa fermentabilidade, teores reduzidos de nitrogênio e minerais, além de apresentar elevadas concentrações de cálcio (Moskovits e Bjorndal, 1990). Apesar dessas inferências sobre os alimentos preferidos, a composição química da dieta consumida ao longo do tempo, bem como as necessidades nutricionais da espécie ainda não foram definidos.

Essa diversificação da dieta e as características anatômicas do trato digestório envolvidas na apreensão, deglutição e digestão do alimento culminaram em adaptações como longos períodos de retenção da ingesta (de 200 a 300 horas) e elevada capacidade de fermentação microbiana no intestino (Fritz et al., 2010). Além disso, esses animais possuem peristaltismo reverso, ou antiperistaltismo no intestino grosso, que é modulado pelo tipo de dieta ingerida, permitindo maior retenção e digestão do alimento (Bjorndal, 1989). O antiperistaltismo, que ocorre do coprodeu sentido à válvula ileocólica, desloca os compostos nitrogenados da urina ao intestino e assim também atua fornecendo nitrogênio para a fermentação microbiana (Stevens, 1989).

Para jabutis-piranga, a digestibilidade da matéria orgânica variou de 36% a 69% conforme a composição do alimento e seu teor de parede celular, demonstrando o seu efeito negativo no aproveitamento do alimento (Bjorndal, 1989). Essa mesma resposta foi observada em diversas espécies de jabutis, apresentando digestibilidade da matéria orgânica variando entre 36% e 96% conforme a dieta, sendo os maiores valores observados para *Geochelone pardalis* e *Geochelone nigra* (Barboza, 1995; Bjorndal, 1989; Liesegang et al., 2001; Hatt et al., 2005; Lickel, 2010). A elevada

ingestão de alimentos fibrosos, com predominância de conteúdos de parede celular (celulose, hemicelulose e lignina), reduz a digestibilidade do alimento apesar das adaptações anátomo-fisiológicas dos jabutis para melhorar o seu aproveitamento.

O material fibroso não digerido segue ao longo do trato gastrointestinal chegando ao ceco e cólon, sítio primário de fermentação, com formação de ácidos graxos de cadeia curta, destacando a produção de acetato (69 a 84% do total produzido) (Barboza, 1995; Bjorndal, 1997). A fermentação desse material é responsável por fornecer elevados teores de energia ao animal correspondendo de 22 a 64% da energia digestível ingerida para jabutis consumindo peletes com alta fibra (48,4% FDN) e grama (Barboza, 1995).

Estudo de Bjorndal (1989), com jabutis-piranga e tinga verificou que a ingestão, taxa de retenção gastrointestinal e digestibilidade da dieta são significativamente influenciados pela composição química do alimento, elevada proporção de parede celular requer maior tempo de fermentação com redução na ingestão alimentar e aumento no tempo de retenção do alimento no trato digestório. Essas características fisiológicas e de comportamento alimentar possivelmente alteram a digestibilidade dos alimentos e o gasto energético para as atividades rotineiras, como forrageamento, alterando o metabolismo destes animais.

2.3. Alterações no metabolismo energético de jabutis em cativeiro

Praticamente inexitem estudos sobre nutrição e metabolismo energético de jabutis-piranga tanto em vida-livre quanto em cativeiro. Contudo, sugere-se que a restrição de espaço resultando em menor atividade física, associada à disponibilidade contínua de alimento, sejam fatores que alterem significativamente a condição metabólica e nutricional em relação à vida livre, necessitando ser considerados. Em função da falta de informações, dietas desbalanceadas são rotineiramente empregadas em cativeiro, compostas de ração de cães complementada com frutas, carne e folhas, em proporções empíricas que não atendem as necessidades nutricionais da espécie (Donoghue e McKeown, 1999). Estas dietas apresentam elevados teores de energia, advinda de amido, açúcares e gordura, com baixa fibra. Por outro lado, em vida livre, a dieta destes animais chegam a apresentar mais de 50% de fibra bruta (Moskovits e Bjorndal, 1990; Almeida, 2011), com importante variação espacial e temporal de disponibilidade. Assim, é possível que as dietas em

cativeiro alterem as respostas metabólicas pós-prandiais e o metabolismo energético (Andrade et al., 2005b), influenciando a saúde dos jabutis.

Consumo elevado de amido e gordura elevam o teor energético da dieta e seu consumo contínuo e prolongado pode estar associado à manutenção crônica de balanço energético positivo (Rawski e Józefiak, 2014), com ocorrência de obesidade e mudanças nas vias metabólicas para obtenção de energia. Em cágados da espécie *Pelodiscus sinensis*, o consumo de dietas contendo 14% de extrato etéreo promoveu acúmulo de lipídios intra-hepático com aumento no estresse oxidativo e alteração nas enzimas marcadoras de lesão neste tecido (AST e ALT), acompanhado por elevação na concentração de colesterol, triglicérides e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), com redução nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Zhong et al., 2020).

O amido proveniente da ração de cães comumente apresenta-se sob elevada gelatinização, resultado do processo de extrusão, sendo disponibilizado facilmente pelas amilases como glicose para absorção no intestino delgado. Quando em excesso, a glicose alimentar pode ser transformada em glicogênio hepático ou ser convertida em ácidos graxos e triacilglicerol via Acetil-CoA e ácido graxo sintetase (Price, 2017). Devido a inexistência de dados a respeito para jabutis, especula-se que informações disponíveis sobre peixes possam ser consideradas como modelos para as possíveis consequências metabólicas do consumo elevado de amido.

Em peixes carnívoros, a ingestão de dietas com elevados teores de amido gelatinizado, especificamente acima de 20% para espécies *Oncorhynchus mykiss* e *Dicentrarchus labrax* e acima de 10% para *Micropterus salmoides*, promove aumentos nas concentrações plasmáticas de colesterol e fosfolipídeos e no conteúdo lipídico do fígado. Ocorre também elevação na atividade de enzimas hepáticas responsáveis pela lipogênese (ME e G6PDH) e no RNA mensageiro CYP3A27, responsável pela regulação do metabolismo de lipídios (Kamalam et al., 2012; Castro et al., 2015; Zhang et al., 2020). Os peixes herbívoros e onívoros, apesar de apresentarem maior tolerância à ingestão de amido em comparação aos carnívoros, também estão sujeitos a lipogênese em inclusões por volta de 30% de carboidratos amiláceos na dieta (Tan et al., 2009; Wang et al., 2005; Li et al., 2016).

Para os jabutis em cativeiro, é possível que dietas com maior teor de fibra e reduzidas quantidades de amido e gordura favoreçam a manutenção do metabolismo energético, composição corporal e saúde. A menor disponibilidade de glicose advinda do amido, que apresenta rápida digestão e absorção, e menor disponibilidade de

triglicerídeos da dieta, que se acumulam prioritariamente no fígado, deverá favorecer a saúde destes animais em cativeiro. Maior ingestão de fibras representa aumento de disponibilização de substrato para a microbiota intestinal, com obtenção de energia advinda da produção de ácido graxos de cadeia curta (Bjorndal, 1987), em detrimento da metabolização de glicose e triglicerídeos. Menor absorção de glicose também resultaria em menor lipogênese e lipidose hepática, com melhor saúde dos animais (Polakof et al., 2012).

2.4. Lipidose hepática: uma das principais desordens metabólicas de jabutis em cativeiro

Para jabutis em cativeiros, destacam-se inúmeros problemas nutricionais em decorrência do fornecimento de dietas impróprias (Donoghue, 1998; Carciofi e Oliveira, 2007; Mans e Braun, 2014). Além das evidentes deformações de carapaça, comuns e secundárias à deficiência de cálcio, alterações em tecido hepático, como doenças degenerativas e esteatose são também de ocorrência descrita (Divers e Cooper, 2000; Carmel e Johnson, 2018; Boyer e Scott, 2019).

A presença do casco dificulta a avaliação nutricional completa com determinação da condição corporal e o diagnóstico de obesidade em testudines. Uma forma de se obter avaliação mais precisa, porém de acesso mais complexo, é pela Absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) e utilizando traçadores isotópicos como a água duplamente marcada (DLW)(Stone et al., 2010). A utilização do DEXA permite melhor abordagem da composição mineral e de possíveis desordens secundárias ao metabolismo de cálcio (Stone e Turner, 2012), além de permitir inferência sobre o metabolismo energético verificando a composição de massa magra e gordura corporal. A DLW permite se conhecer a composição hídrica, de gordura e massa magra permitindo a discriminação do acúmulo lipídico e obesidade.

Casos de obesidade são descritos em répteis e estão associados a mudanças no metabolismo energético (Mcarthur e Barrows, 2004a; Boyer e Scott, 2019). Estes podem ser fator predisponente a desordens hepáticas, no sistema cardiovascular e reprodutivo (Carmel e Johnson, 2018). Mamíferos mantidos em dietas com elevado teor de gordura apresentaram aumento nos metabólitos lipídicos (ácidos graxos, fosfatidilcolinas e lisofosfatidilcolinas) e diminuição nos intermediários desse metabolismo (betaína, carnitina e acilcarnitina), indicando anormalidades no

metabolismo energético e de lipídeos com acúmulo de gordura (Kim et al., 2011). Estudos em aves (Labonde, 1997; Aydin, 2005), cães (Brunetto et al., 2011) e gatos (Jordan et al., 2008) associaram obesidade com alterações nas rotas metabólicas para a obtenção de energia, dislipidemias e consequências negativas em órgãos dos sistemas cardiovascular e hepático. Estes estudos, infelizmente não estão disponíveis em testudines, mas é razoável se aventar a hipótese que estes répteis terão respostas fisiopatológicas similares.

De difícil diagnóstico e patogenia incompletamente compreendida, a lipídose é desordem metabólica multifatorial que parece estar associada ao consumo de alimentos muito energéticos, ricos em colesterol e outras gorduras e carboidratos digestíveis (Divers e Cooper, 2000; Wright, 2012; Boyer e Scott, 2019; Colon e Gumpenberger, 2020). Em peixes, a ingestão de alimentos com elevados teores de amido promove o acúmulo de lipídeos hepáticos por modificações nas rotas metabólicas lipogênicas do sistema *de novo*, com efeito inclusive mais marcante que o proporcionado pela ingestão de gordura (Prisingkorn et al., 2017; Xie et al., 2017).

Estudos com tartarugas e lagartos demonstraram que a taxa de transformação de glicose em lipídeos depositados no tecido hepático é maior que o depósito em tecido adiposo (Da Silva e Migliorini, 1990). A deposição hepática de triglicerídeos pode ser 2 a 27 vezes maior que a em tecido adiposo (Marschall e Gist, 1973; Price, 2017), o que pode ser fator chave no desenvolvimento de alterações hepáticas como a lipídose. Isso demonstra possível regulação dos níveis glicêmicos através de lipogênese hepática em répteis, efeito similar ao encontrado em peixes, animais também ectotérmicos (Hemre et al., 2002). Porém, a participação do amido na etiologia dessa desordem não é bem definida para jabutis, mas quando alimentados por longos períodos com dietas de cão, que são ricas em amido e gordura, parecem apresentar esta alteração no tecido hepático. Além disso, obesidade consequente à elevada ingestão de amido também é considerada fator predisponente e propicia o acúmulo de gordura celomática (Divers e Cooper, 2000; Wright, 2012).

Por serem alterações crônicas e insidiosas, a lipídose e degeneração hepáticas geralmente não produzem sinais clínicos específicos, muitas vezes sendo achados *post mortem*. O diagnóstico de alterações hepáticas em répteis é realizado pela associação do histórico clínico, análises hematológicas, bioquímica sérica, ultrassonografia e, prioritariamente por biópsia hepática (Dutra, 2014). Recentemente alguns estudos vem validando o uso de tomografia computadorizada no diagnóstico

da lipidose em répteis (De Albuquerque Bonelli et al., 2013; Nardini et al., 2013 Marchiori et al., 2015), mas a biópsia ainda é o método mais preciso para a determinação e estadiamento da lesão.

A biópsia do tecido hepático, associada à sua análise histológica é indispensável no diagnóstico e provê panorama acurado das possíveis alterações do órgão, definindo o prognóstico da doença e os resultados do tratamento (Divers e Cooper, 2000). A avaliação macroscópica em casos de lipidose revelam mudanças na coloração do órgão, alterando este de uma tonalidade marrom escura para um tecido com tonalidades amareladas que se acentuam com o acúmulo de lipídeos (Kassab, Shousha e Fargani, 2009). Ao exame histopatológico, a lipidose apresenta-se como acúmulo excessivo de lipídios no interior do hepatócito e podendo ser classificada como macrovesicular ou microvesicular de acordo com o volume de lipídio dentro em cada vacúolo quando comparado a um citoplasma com vacuolização fisiológica (Divers e Cooper, 2000). O seu desenvolvimento crônico pode estar associado a processos inflamatórios culminando em perda da função tecidual com a ocorrência de fibrose (Lau, Zhang e Yu, 2017).

O diagnóstico histológico da lipidose hepática deve levar em consideração dentre vários fatores, a espécie, estação do ano e status reprodutivo, uma vez que o fígado de répteis é órgão de reserva lipídica para os períodos de hibernação e para a vitelogenese, com acúmulo fisiológico de lipídeos prévia a estação reprodutiva (Divers, 2019). Geralmente a presença de elevado acúmulo de lipídio intra-hepático é acompanhado de mudanças estruturais no hepatócito com perda de função, como alterações nucleares degenerativas (piquinose e cariorrexis), presença de infiltrados inflamatórios e hiperplasia de células de Kupffer (Divers e Cooper, 2000).

2.5. Parâmetros hematológicos e bioquímicos

As análises hematológicas e bioquímicas compõem importante ferramenta clínica na medicina de répteis para avaliar a sanidade do animal, devido à dificuldade de se obter avaliação física adequada e pela escassez de sinais clínicos acessíveis durante o exame físico (Andreani et al., 2014). Associada ao conhecimento da alimentação fornecida, a avaliação hematológica nos dá indicativo da qualidade da dieta, uma vez que a dieta está fortemente correlacionada a imunidade e ocorrências de doenças nos animais (Carciofi and Oliveira 2007). A má-nutrição de *Podocnemys*

expansa foi marcada pela presença de anemia normocítica hipocrômica e redução no hematócrito com redução na contagem de leucócitos totais juntamente com heterofilia e basofilia (Tavares-Dias et al. 2009) demonstrando esses efeitos da nutrição na sanidade em répteis.

Para répteis, o estabelecimento dos valores de referência ainda é insipiente. Estes são afetados por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal, como as condições climáticas ambientais e fatores nutricionais (Santos et al., 2009; Andreani et al., 2014; Eatwell et al., 2014; Campbell, 2015). Para jabutis-piranga alguns trabalhos trazem alguns valores de referência para os parâmetros hematológicos e bioquímicos (Tabela 1), porém a ampla variação da faixa de referência e a falta de estudos mais completos dificulta, por vezes, a interpretação dos resultados (Dutra, 2014; Pereira, 2015; Bergamini, 2016; Gibbons et al., 2019).

Tabela 1. Valores de referências dos parâmetros hematológicos e bioquímicos propostos para jabutis-piranga.

Parâmetros hematológicos ¹	Valores de referência ²	Parâmetros bioquímicos ³	Valores de referência ⁴
Eritrócitos ($\times 10^6$ cél/ μ L)	0,36 – 0,68	Glicose (mg/dL)	38,08 – 137,36
Hemoglobina (g/dL)	4,27 – 8,30	Ureia (mg/dL)	5,00 – 56,47
Hematócrito (%)	18,0 – 33,0	Proteína Total (g/dL)	2,44 – 5,95
VCM (fL)	403,1 – 573,1	Albumina(g/dL)	0,30 – 2,10
CHCM (g/dL)	19,73 – 27,83	AST (UI/L)	73,90 – 517,65
Leucócitos (cél/ μ L)	5300 - 14182	Fosfatase alcalina (UI/L)	23,73 – 111,28
Heterófilos (cél/ μ L)	1245 – 8005	Creatina quinase (UI/L)	123,1 – 2935,4
Eosinófilos (cél/ μ L)	38,43 – 2519	Colesterol (mg/dL)	79,0 – 448,83
Basófilos (cél/ μ L)	136 – 2373	Triglicérides (mg/dL)	27,18 – 1127,28
Linfócitos (cél/ μ L)	681 – 6827	HDL col (mg/dL)	22,2 – 33,1
Monócitos (cél/ μ L)	0 - 718	LDL col (mg/dL)	55,2 – 117,3
		VLDL col (mg/dL)	11,6 – 24,0

¹ VCM – volume corpuscular médio; CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média.

² Valores de referência segundo Bergamini (2016).

³AST – aspartato aminotransferase; HDL col – lipoproteína de alta densidade carreadora de colesterol; LDL col – lipoproteína de baixa densidade carreadora de colesterol; VLDL col – lipoproteína de muito baixa densidade carreadora de colesterol.

⁴Valores de referência segundo Bergamini (2016) e Pereira (2015).

O sexo é fator importante a ser considerado na avaliação hematológica de répteis, sendo descritos maiores valores de hematócrito e concentração de hemoglobina em machos para alguns Testudines (Nardini et al., 2013; Campbell,

2015). O longo período de duração dos eritrócitos, que em quelônios é de 600 a 800 dias, é acompanhada por renovação celular mais lenta com conseqüente mudança tardia no hemograma, devendo ser consideradas na avaliação hematológica. A presença de anemias regenerativas são achados comumente verificados em répteis que passaram pelo processo de hibernação ou brumação (Eatwell et al., 2014).

Com relação a contagem diferencial de leucócitos, répteis apresentam granulócitos (heterofilos, eosinófilos, basófilos) e agranulócitos (monócitos, azurófilos e linfócitos), em quelônios os heterofilos são os principais tipos celulares com função similar aos neutrófilos encontrados em mamíferos (Stacy et al., 2011; Nardini et al., 2013; Eatwell et al., 2014). Os azurófilos são específicos de répteis e comumente observados em esquamatas e crocodilianos, associados a processos inflamatórios e infecciosos (Stacy et al., 2011).

É comum em répteis mantidos em cativeiro se observar alterações metabólicas de origem nutricional e por manejo ambiental inadequados, com mudanças nos parâmetros bioquímicos (Campbell, 2012). Dietas altamente proteicas promovem elevações na concentração sérica de ureia e proteína total (Campbell, 2012; Andreani et al., 2014), bem como a situação de má nutrição e má absorção de nutrientes são algumas das causas de hipoproteinemias em répteis (Campbell 2012). Hipoalbuminemias também podem estar estreitamente relacionadas à má nutrição, com redução na ingestão de aminoácidos, bem como a diminuição na sua produção por desordens hepáticas ou ainda por déficit na absorção e aumentos nas perdas (doenças intestinais, renais, dentre outras) (Eatwell et al., 2014).

Assim como para aves e mamíferos, aumentos nas enzimas hepáticas são sugestivas de lesões neste tecido. Para répteis, aumentos maiores que 250 UI/L nas concentrações de aspartato aminotransferase é indicativo de lesão hepática ou injúria muscular, sendo então avaliada em conjunto com os valores de creatinina quinase (CK), marcador que indica lesão muscular (Campbell, 2012). A fosfatase alcalina para estes animais não é específica do tecido hepático, sendo encontrada em tecidos ósseos e reprodutivos, devendo a sua interpretação para injúria hepática ser cautelosa e associada a outras análises (Andreani et al., 2014).

Dislipidemias comumente são avaliadas por meio do perfil sérico de triglicerídeos e colesterol. Outra forma de se avaliar as desordens do metabolismo de lipídeos, descrita em diversas espécies, mas não comumente avaliada em Testudines, é pela determinação das lipoproteínas plasmáticas e suas frações (Aydin, 2005;

Jordan et al., 2008; Ravich et al., 2014). Por estarem associada diretamente ao transporte dos triglicerídeos e colesterol, a avaliação das lipoproteínas de alta, baixa e muito baixa densidade (HDL, LDL e VLDL, respectivamente) fornece perfil preciso da metabolização dos lipídeos, sejam eles advindos da dieta ou de síntese endógena (Price, 2017).

2.5.1. Lipoproteínas plasmáticas e o metabolismo de lipídeos

As lipoproteínas são macromoléculas de estrutura complexa formadas pela associação de lipídeos e proteínas específicas (apoproteínas ou apolipoproteínas). Estas diferem quanto a composição, tamanho e densidade, com a função de transportar moléculas de lipídeos advindas dos alimentos para armazenamento e utilização (Nelson e Cox, 2004; Araújo et al., 2015). De acordo com a densidade da molécula, originada pelas porções entre triglicerídeos e proteínas, as principais lipoproteínas são: quilomícrons, VLDL (Very-low-density lipoproteins) - lipoproteínas de muito-baixa-densidade, IDL (Intermediate-density lipoproteins) - lipoproteínas de densidade intermediária, LDL (Low-density lipoproteins) - lipoproteínas de baixa-densidade e HDL (High-density lipoproteins) - lipoproteínas de alta-densidade (Araújo et al., 2015; Price, 2017).

Após a ingestão, os triglicerídeos presentes no alimento são hidrolisados por lipases pancreáticas à ácidos graxos livres e monoacilglicerol, os quais são absorvidos pelos enterócitos e reesterificados. O transporte dos triglicerídeos formado nos enterócitos para os tecidos periféricos ainda não está bem elucidado para répteis, não havendo consenso sobre a presença de quilomícrons (mamíferos) ou portomícrons (aves) (Price, 2017; Beaufrère et al., 2020). Os quilomícrons ou portomícrons apresentam elevado tamanho com muito baixa densidade (maior teor de lipídeos) e carregam colesterol e seus ésteres, vitaminas lipossolúveis, e principalmente triglicerídeos oriundos do intestino (Araújo et al., 2015; Beaufrère et al., 2020).

Formada no fígado, as VLDL são responsáveis por transportar os lipídeos oriundos da dieta e da lipogênese a partir dos lipídeos excedentes ou dos demais substratos (carboidratos e proteínas) via síntese *de novo* para os tecidos periféricos (Price, 2017). Em peixes, a ingestão de dietas ricas em carboidratos, especialmente de amido gelatinizado favorece as vias de biossíntese de colesterol, com elevação dos níveis de VLDL e LDL circulantes (Castro et al., 2015). As LDLs por sua vez, são formadas após a transferência de triglicerídeos e ésteres de colesterol das VLDLs

para HDL. Dessa forma, a VLDL se torna uma LDL que é então destinada aos tecidos periféricos onde irá liberar colesterol, ou ainda retornar ao fígado com este colesterol. O HDL por sua vez é capaz de captar as apoproteínas formadoras de lipoproteínas servindo como um reservatório destas, além de receber o colesterol não esterificado promovendo a sua esterificação e realizando o transporte reverso do colesterol (Araújo et al., 2015; Price, 2017).

As LDLs estão associadas à alterações cardiovasculares em seres humanos, enquanto a HDL apresenta um efeito cardioprotetor na formação de placas ateroscleróticas (Beaufrère et al., 2020). Entretanto, para répteis, essa correlação entre as lipoproteínas, as dislipidemias e as doenças cardiovasculares parecem não seguir o mesmo padrão com diferenças estruturais e funcionais nas lipoproteínas entre mamíferos e aves (Beaufrère et al., 2020). Para répteis, não há estudos sobre essa correlação, mas LDL é o principal carreador de colesterol, representando 90% e 82% para fêmeas e machos, respectivamente, ficando para o HDL apenas 12% deste composto (Asadi et al., 2007).

Valores de referência e a correlação das lipoproteínas de répteis com alterações cardiovasculares ainda são escassos. Para jabutis-piranga, as frações de lipoproteínas carreadoras de colesterol apresentaram valores de 11,61 – 24,02 mg/dL para VLDL, 55,21-117,34 mg/dL para LDL e 22,21 – 33,06 mg/dL para HDL (Pereira, 2015). No entanto, mais estudos são ainda necessários para compreender e estabelecer valores de referência para a espécie.

2.6. Metabolismo energético

Conhecer o metabolismo energético de répteis é fundamental para a compreensão da ecologia, comportamento e evolução de suas espécies, uma vez que esses animais apresentam adaptações específicas nos padrões de alocação de energia (Hopkins et al., 2004; Trullas et al., 2006). Diferentemente dos mamíferos e aves, tanto répteis quanto anfíbios apresentam baixo fluxo de energia e ingestão alimentar, com elevadas taxas de conversão de biomassa, com valores médios de eficiência de conversão dos nutrientes ingeridos em tecidos de 43,6%, enquanto para mamíferos é de 1,4% (Pough, 1983).

Por serem animais ectotérmicos os jabutis, assim como os demais répteis, são fortemente afetados por fatores ambientais, apresentam baixas taxas metabólicas

basais e dinâmica de metabolismo energético diferente da dos mamíferos (Pough, 1983; Hailey e Loveridge, 1997). De acordo com a estação do ano e seu estado fisiológico, a taxa metabólica destes animais pode variar em até 28 vezes (Hailey e Loveridge, 1997; Henen, 1997a; Henen et al., 1998). Períodos de inatividade inerentes à espécie são acompanhados por mudanças no metabolismo de lipídios, ocorrendo o armazenamento fisiológico de triglicerídeos em tecido hepático, gônadas, carcaça e cauda (Sheridan, 1994; Price, 2017). Apesar dos estudos sobre necessidade energética serem escassos para a família Testudinidae (Paranzini et al. 2008) sugere-se que estes quelônios apresentem menor gasto energético por quilograma de massa corporal em comparação aos demais répteis herbívoros (Jodice et al., 2006), o que poderia acentuar ainda mais os desbalanços energéticos e nutricionais nesses animais quando recebem em cativeiro dietas inadequadas.

Fator limitante na compreensão do metabolismo energético da espécie é a escassez de estudos, a variabilidade e diferenças nos métodos e condução dos estudos disponíveis, além da maioria dos estudos abrangerem animais mais jovens cujo metabolismo é mais intenso devido ao crescimento. A maior parte dos trabalhos encontrados utilizaram o método de isótopos estáveis (doubly labeled water) com animais em vida-livre, e não em cativeiro. É descrito que os valores de gasto energético em vida-livre, para animais endotérmicos, podem diferir em até 50% em comparação à calorimetria indireta, no qual os indivíduos estão restritos às câmaras com limitada atividade física e baixa demanda energética muscular (Nagy e Montgomery, 1980; Weathers e Nagy, 1984; Williams e Nagy, 1984). Nos estudos em vida-livre, importante componente do gasto energético é representado por atividade muscular, o que explica maiores valores quando comparados aos estudos de calorimetria indireta com animais restritos à câmaras de respirometria.

2.6.1. Calorimetria Indireta

Uma forma de se mensurar o gasto energético do animal é por calorimetria indireta. Esta conceitua-se como a medida da produção de calor do animal, avaliada por meio da produção de dióxido de carbono e consumo de oxigênio durante a utilização dos substratos (proteína, carboidratos e gorduras) oriundos da alimentação e/ou reservas corporais por via aeróbia (Elia e Livesey, 1992; Battley, 1995; Arch et al., 2006). Nesta metodologia, a espécie de estudo é alojada e aclimatada em câmaras respirométricas completamente vedadas, por determinado período de tempo, e toda

a produção de dióxido de carbono (VCO_2) e consumo de O_2 é mensurada através de analisadores considerando o fluxo de ar que passa pelo sistema (Lighton 2008).

Em diversas espécies de mamíferos, aves e insetos, a calorimetria indireta já foi validada e amplamente aceita como metodologia para mensuração da taxa metabólica (Kristín e Gvoždík, 2012). Em répteis, essa metodologia já foi utilizada na determinação do metabolismo energético e fisiologia respiratória utilizando o sistema de respirometria aberta, com fluxo de ar constante, ou fechada, com restrição do fluxo de ar por períodos determinados (De Andrade e Abe, 1999; Brown, Nagy e Morafka, 2005; Toledo et al., 2008; Goessling, Mendonça e Appel, 2018).

Utilizando essa metodologia, destacam-se estudos com lagartos, serpentes e crocodilos avaliando o efeito da ingestão e composição das dietas no metabolismo energético (Secor e Phillips, 1997; Iglesias et al., 2003; Mccue, 2006). Tanto a quantidade como a composição do alimento ingerido estão estreitamente correlacionados com a taxa metabólica e o gasto energético para digestão, absorção e utilização dos nutrientes (Wang et al., 2001). Este efeito avaliação é conhecido como *specific dynamic action* (SDA) ou incremento calórico e está associado à elevada demanda energética do período pré e pós-absortivo (Hailey, 1998; Secor, 2009). É descrito, por exemplo, em pítons aumentos de mais de 40 vezes na taxa metabólica em comparação com os valores basais (Secor e Diamond, 1995). Alimentos com maior teor proteico tendem a induzir maior SDA em resposta à deaminação de aminoácidos, síntese proteica e excreção nitrogenada (Borsook, 1936; Andrade et al., 2005a), com valores de 0,8 L O_2 / g de proteína absorvida para *Kinixys spekii* (Hailey, 1998).

Para quelônios, a respirometria foi mais explorada em estudos sobre fisiologia respiratória e dos efeitos das condições ambientais como temperatura e fotoperíodo (Litzgus e Hopkins, 2003; Goessling et al., 2018). Apesar de haver alguns estudos na área, este método ainda não foi bem padronizado para jabutis, havendo lacunas quanto ao sistema respirométrico a ser utilizado e quanto aos cálculos para obtenção do gasto energético. Em sua maioria, os artigos consideram apenas um dos gases analisados (CO_2 ou O_2) no estabelecimento da produção de calor, possivelmente reduzindo a precisão do método. Dentro de uma mesma espécie, a amplitude de variáveis intrínsecas (sexo, idade, peso corporal, adiposidade) e extrínsecas (dieta, temperatura, período de mensuração dos gases, estação do ano) que interferem na avaliação e também dificultam a comparação de resultados (Arch et al., 2006; Glazier,

2005, 2009; c; Burton et al., 2011) e a extrapolação de valores encontrados na literatura.

Os trabalhos encontrados para jabutis-piranga abrangem aspectos sobre fisiologia respiratória de animais em jejum de pelo menos cinco dias sob diferentes temperaturas, com valores de VO_2 e VCO_2 , respectivamente, variando de 0,21 a 1,18 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ e 0,14 a 1,33 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$, para animais jovens e 0,07 a 0,29 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ e 0,03 a 0,30 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ em animais adultos (Baú 2016; de Oliveira 2018). Comparativamente, para espécies do deserto (*Gopherus polyphemus* e *Gopherus agassizii*), encontra-se valores de VO_2 variando de 0,26 a 0,32 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ (Ultsch and Anderson 1988; Goessling et al. 2018), valores abaixo ao encontrado em outras espécies de quelônios (*Testudo gigantea*: 0,77 a 2,45 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$, *Testudo hermanni*: 0,21 a 2,50 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$, Hughes et al., 1971; *kinixys spekii*: 0,06 a 0,99 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$, Hailey e Loveridge, 1997; Hailey, 1998).

2.6.2. Água duplamente marcada

A utilização de isótopos estáveis é ferramenta importante nos estudos de ecologia. É baseada em elementos cujo peso molecular se distingue devido ao número de prótons no núcleo do seu átomo, com baixa abundância na natureza (Roberts 1989). Muitos estudos envolvendo ecologia lançam mão desse princípio na elucidação de pontos importantes sobre fisiologia, comportamento e nutrição de diversos animais. Comumente utilizam os isótopos de hidrogênio e oxigênio, representados pelo deutério (2H) ou trítio (3H) e pelo oxigênio 18 (^{18}O) (Carter et al., 2019; Nagy, 1989). Por ser isótopo radioativo, o trítio vem sendo substituído amplamente pelo seu isótopo estável deutério.

Esse método é fundamental para estudos em animais de vida livre, isso porque não demanda restrição da atividade apenas necessita de breves períodos de contenção para marcação do animal, pesagem, obtenção de amostras de sangue e aplicação do isótopo (Nagy, 1989). O método baseia-se na incorporação dos isótopos estáveis na água corporal do animal, aguardando-se o estabelecimento de equilíbrio isotópico. Há posteriormente a utilização e eliminação dos isótopos nas vias metabólicas produzindo CO_2 e H_2O , sendo acompanhado o seu desaparecimento nos fluídos corporais ao longo do tempo (Roberts, 1989).

Para mamíferos, a sua utilização vem sendo melhor explorada na mensuração de parâmetros referentes à produção de CO_2 , gasto energético, fluxo de água diário

e composição corporal, tanto em condições fisiológicas quanto em alterações metabólicas (Nagy e Milton, 1979; Roberts, 1989; Acquarone et al., 2006; Goloni et al. 2020). Em répteis, os estudos envolvendo a água duplamente marcada são mais focados na produção de CO₂, gasto energético e fluxo de água, com enfoque na influência dos fatores ambientais sobre estes parâmetros. Não se localizaram estudos específicos para répteis que determinaram a composição corporal por este método.

Estudos com jabutis-piranga utilizando esta metodologia, com os animais sob atividade e alimentados não foram encontrados e dificultam a comparação e interpretação mais precisa das necessidades energéticas para a espécie sob situações de manejo comuns ao cativeiro com os animais desempenhando atividades (alimentação, deslocamento e reprodução). A maioria dos trabalhos encontrados são descritos em espécies de deserto e descrevem o gasto energético dos jabutis de diversas idades em vida-livre. Para *Gopherus polyphemus*, descreve-se um gasto energético diário de 29,5 a 50,7 KJ.kg⁻¹.dia⁻¹ com fluxo de água corporal de 11,8 a 26,6 mL.kg⁻¹.dia⁻¹ (Jodice et al. 2006); já para *Gopherus agassizii* e *Terrapene carolina*, avaliando o efeito das estações do ano sobre a taxa metabólica, o gasto energético abrangeu valores mais amplos variando de 9,9 a 45,8 KJ.kg⁻¹.dia⁻¹ e 17,5 a 68 KJ.kg⁻¹.dia⁻¹, respectivamente (Henen et al., 1998; Penick et al., 2002).

3. HIPÓTESE E OBJETIVOS

É hipótese desse estudo que dietas com maior teor de fibra possam ser benéficas ao metabolismo de jabutis, reduzindo a ocorrência de dislipidemias e desordens associadas, observados por mudanças nos parâmetros bioquímicos, metabolismo energético e de lipídeos, prevenindo acúmulo de gordura corporal em relação à alimento com maiores teores de amido ou gordura. A dieta com alta fibra e baixa energia, irá ainda, contribuir para melhor saúde hepática, reduzindo as chances de alterações como esteatose, comumente verificada em jabutis alimentados com dietas de elevado teor de amido e gordura. Por outro lado, o consumo de alimentos mais energéticos, com elevada gordura ou amido deverá induzir elevação do consumo de calorias, obesidade e acúmulo corporal de gordura, podendo reduzir a saúde dos jabutis.

Considerando o exposto anteriormente, são objetivos deste estudo avaliar o consumo, digestibilidade dos nutrientes, tempo de trânsito gastrointestinal, formação de produtos de fermentação microbiana, parâmetros séricos do metabolismo de gorduras, aspectos histopatológicos do tecido hepático e o metabolismo energético de jabutis adultos alimentados com rações extrusadas com elevados teores de amido ou gordura comparadas à dieta com maior inclusão de fibra.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (rações) e 15 repetições por tratamento (jabutis), exceto o grupo que recebeu a ração alto amido que ficou com 14 jabutis devido ao óbito de 1 animal no período pré-experimental. Em cada tratamento, os animais foram balanceados quanto ao sexo, totalizando 44 unidades experimentais. Os tratamentos experimentais foram constituídos por três rações, sendo uma Controle, com maior teor de fibra em sua composição, uma ração com elevado teor de Amido e outro com elevada Gordura.

O experimento teve duração total de 23 meses, divididos em dois períodos. O período pré-experimental teve duração de 4 meses, destinados a avaliação da saúde dos animais, adaptação destes ao recinto, manejo e consumo de alimento extrusado. Nesta etapa todos os animais receberam a mesma ração extrusada pré experimental, além de folhas de couve, hibisco ou amora. O período experimental propriamente dito teve duração de 19 meses, sendo: dia 1 – sorteio da ração experimental e distribuição dos animais por tratamento; dias 1 a 3 –realização de biópsia hepática em 18 jabutis, sendo 6 por tratamento, para análise histopatológica inicial do fígado; dia 4 - coleta de sangue para análises bioquímicas e hematológicas basais; dias 5 ao 19 – realização do teste de preferência das rações experimentais; dias 60 ao 75 – determinação do gasto energético, água corporal e *turnover* hídrico pelo método da água duplamente marcada; dias 120 ao 270 –avaliação do tempo de trânsito gastrointestinal, ensaio de digestibilidade e coleta de fezes para obtenção de ácidos graxos voláteis, lactato, amônia e pH; dia 183 - coleta de sangue para análises bioquímicas e hematológicas; dias 365 ao 368 – foi realizada a segunda coleta de biópsia hepática, nos mesmos

animais que foram biopsiados ao início do estudo para avaliação histológica do fígado e determinação da composição corporal por absorciometria de raios-X de dupla energia; dia 368 - coleta de sangue para análises bioquímicas e hematológicas finais; dias 423 ao 437 – determinação do gasto energético diário pelo método da calorimetria indireta em câmaras de respirometria; dias 447 ao 469- determinação final do gasto energético, água corporal e *turnover* hídrico pelo método da água duplamente marcada; dias 572 ao 573– avaliação das lipoproteínas séricas por cromatografia líquida (HPLC); dias ao 575 ao 587 - finalização do estudo com o teste de preferência das dietas experimentais nos recintos.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal (Protocolo nº 016720/17).

4.2. Animais, recintos e manejo

Foram utilizados 44 Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) adultos, machos e fêmeas, com peso médio ao início do período experimental de $5,61 \pm 2,38$ kg. A seleção dos animais foi realizada previamente ao estudo mediante avaliação de bioquímica sérica dos parâmetros glicêmicos, de enzimas hepáticas e lipidograma associados à avaliação clínica com inspeção de mucosas, desidratação, presença de lesões e alterações em casco. Os animais foram alojados em três recintos cobertos com sombrite 80%, piso de terra e sem cobertura vegetal, com 5,00m de comprimento por 6,00m de largura, área coberta (dormitório) de 1,0m de largura por 3,00m de comprimento, comedouros de 2,0m de comprimento por 0,25m de largura e bebedouros semicircular de aproximadamente 1m de raio (Figura 1). Todos os recintos possuíam área sombreada e com acesso ao sol permitindo a termorregulação dos animais, bem como os bebedouros foram projetados de forma a possibilitar a imersão completa da cabeça para a adequada ingestão hídrica. Em cada um dos recintos foram alojados 15 jabutis, equilibrados quanto ao peso corporal e sexo. Os animais foram provenientes do Bosque Municipal Fabio Barreto, Ribeirão Preto - SP e do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens, FMVZ/UNESP, Campus de Botucatu, mediante aprovação prévia do IBAMA (SISBIO número 60562-1). Todos os animais foram marcados individualmente com microchips.

Durante o período experimental foram ofertados aos jabutis aproximadamente 20 gramas/animal/dia da respectiva ração experimental em comedouros coletivos,

sendo as quantidades ajustadas ao longo do ano de forma a permitir o consumo alimentar e hídrico *ad libitum*. Neste período não foram fornecidos outros tipos de alimento. O consumo por recinto foi verificado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e as sobras.



Figura 1. Estrutura geral dos três recintos experimentais. **A.** Estrutura dos recintos sem a cobertura com o sombrite. **B.** Aspecto do recinto sem cobertura vegetal e ao fundo dormitório fechado. **C.** Detalhe do dormitório. **D.** Comedouro coletivo em um dos recintos. **E.** Detalhes do comedouro coletivo. **F.** Detalhe do bebedouro semicircular. **G.** Baias individuais utilizadas nas coletas do tempo de trânsito gastrointestinal, digestibilidade dos nutrientes e produtos de fermentação microbiana intestinal. **H.** Detalhes da baia individual.

De início os jabutis foram pesados semanalmente, para verificar se estavam ingerindo adequadamente as rações e mantendo ou ganhando peso corporal. Após o período pré-experimental, estes passaram a ser pesados mensalmente. A temperatura e umidade ambiente foram monitoradas e registradas diariamente utilizando *data logger* Elitech GSP-6 (Jiangsu Jingchuang Electronics Co. Ltd, China),

verificando as flutuações climáticas ao longo do ano para possíveis interpretações das interferências no metabolismo dos animais (Figura 2).

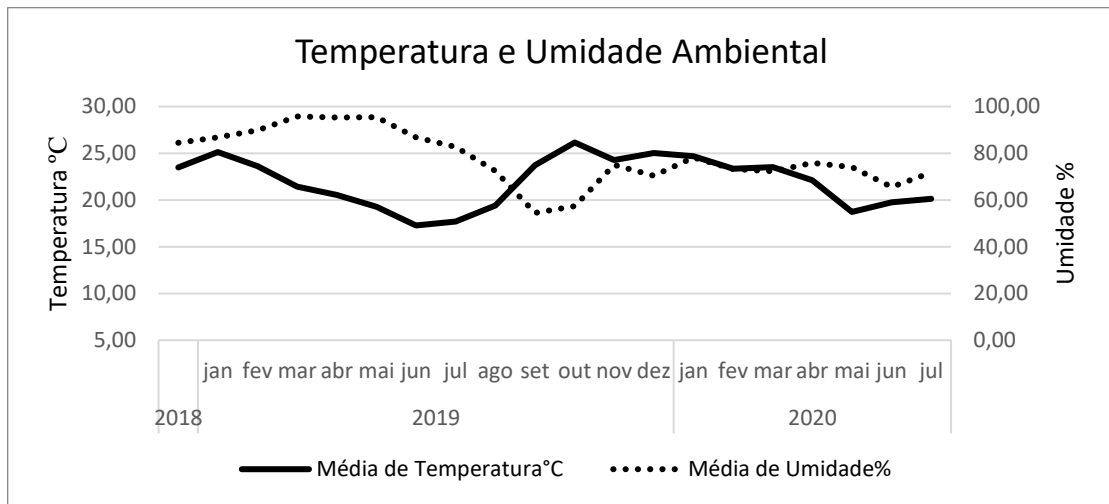


Figura 2. Temperatura e umidade ambiental média nos recintos durante o período experimental.

4.3. Dietas experimentais

As rações experimentais foram formuladas para jabutis em manutenção (Tabela 2). Com exceção da ração empregada no período pré-experimental, as rações experimentais foram acrescidas de 0,25% de óxido de cromo, como marcador externo de digestibilidade. As dietas experimentais foram formuladas mantendo semelhante a contribuição energética advinda da proteína e variando a participação da gordura e dos extrativos não nitrogenados, conforme o objetivo de cada dieta experimental. Para tal, utilizou-se nos cálculos de obtenção da energia metabolizável uma contribuição de 3,5 kcal, 8,5 kcal e 3,5 kcal para cada grama de proteína bruta, extrato etéreo e extrativo não nitrogenado, respectivamente (Donoghue e Mckeown, 1999; Carciofi e Oliveira, 2007).

As rações foram preparadas na Fábrica de Ração Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Univ. Estadual Paulista. Os ingredientes foram pesados e misturados em três lotes, de acordo com as formulações (Controle, Amido e Gordura), sendo na sequência as misturas moídas em moinho de martelos (Tigre, Moinhos Tigre, São Paulo, Brasil) equipado com peneira com furos de abertura de 1,4 mm. As farinhas moídas foram processadas em extrusora de rosca simples (Modelo Mex-250, Manzoni Industria Ltda, Campinas, SP, Brasil) com capacidade de produção de 250 kg/h. A adição de água no condicionador e no canhão

da extrusora, taxa de alimentação e velocidade da rosca extrusora foram ajustadas de acordo com as formulações, tendo-se como objetivo a produção de extrusados bem formados e com densidade adequada.

Tabela 2. Fórmula das rações para jabutis em manutenção empregadas no estudo.

Item	Composição de ingredientes (%)			
	Pré-experimental	Controle	Amido	Gordura
Fibra de Cana	13,43	18,00	2,00	2,00
Polpa de Beterraba	10,00	18,32	4,00	4,00
Milho Grão	20,28	8,00	48,24	28,52
Farelo de Soja 45%	14,77	4,00	12,69	22,66
Feno de Alfafa	6,00	10,00	3,00	1,00
Trigo Farelo	12,00	18,02	6,00	7,56
Farinha de Vísceras de Frango	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de Trigo	5,00	5,00	5,00	5,00
Levedura de Cana	2,50	2,50	2,50	2,50
Linhaça Integral	2,00	2,00	2,00	2,00
Palatabilizante Líquido	2,00	2,00	2,00	2,00
Gordura de Aves	1,00	1,00	1,00	11,32
Óleo de Soja	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato Bicálcico	0,52	0,62	0,60	0,49
Premix MIN/VIT ¹	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Colina	0,25	0,25	0,25	0,25
Sal Comum	0,25	0,25	0,25	0,25
Antifúngico ²	0,10	0,10	0,10	0,10
DL - Metionina	0,06	0,13	0,04	0,01
Antioxidante ³	0,05	0,05	0,05	0,05
Calcário	0,33	0,01	0,53	0,54
Óxido crômico	-	0,25	0,25	0,25

¹ Adição por quilograma de ração: Vitamina A – 18.750 UI, Vitamina D3 – 1.500 UI, Vitamina E – 125 UI, Vitamina K3 -1,5 mg, Vitamina B1 – 5 mg, Vitamina B2 – 16,2 mg, ácido Pantotênico – 37,5 mg, Vitamina B6 – 7,5 mg, Vitamina B12 – 45 mcg, Ác. nicotínico – 0,625 mg, Ác. fólico – 0,75 mg, Biotina – 0,315 mg, Ferro – 100 mg, Cobre – 9,25 mg, Manganês – 6,25 mg, Zinco – 150 mg, Iodo – 1,87 mg, Selênio – 0,135 mg

² Mold-zap Aquativa. Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzóico (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.).

³ Banox. Composição: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio (Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.)

Após estabilização da extrusora foram mensuradas a cada 15 minutos a amperagem do motor, pressão e temperatura da massa na extrusora, produtividade e densidade aparente do extrusado (Tabela 3). Após extrusão, os kibbles foram secos por 15 min em secador vertical de duas passagens, operando a 105°C. Foram coletadas a cada 15 minutos amostras da ração no pré-condicionador, na saída da

extrusora e no secador para avaliação do teor de umidade durante o processo. Após a secagem, os extrusados foram recobertos com óleo de vísceras de frango, óleo de soja e palatabilizante líquido, conforme formulação, sendo na sequência embalados.

Tabela 3. Parâmetros do processo de extrusão e macroestrutura dos kibbles das dietas experimentais (Média \pm Desvio Padrão).

Parâmetros	Pré- experimental	Dietas Experimentais		
		Controle	Amido	Gordura
<i>Pré-condicionador</i>				
Temperatura (°C)	35,1 \pm 0,8	30,8 \pm 1,2	26,9 \pm 1,2	28,8 \pm 2,2
Umidade na saída (%)	98,5 \pm 0,6	95,3 \pm 1,0	85,0 \pm 1,0	95,0 \pm 0,8
<i>Extrusora</i>				
Amperagem do motor (A)	41,8 \pm 1,2	45,2 \pm 0,5	41,2 \pm 1,5	44,7 \pm 1,5
Temperatura da massa (°C)	139,8 \pm 4,1	144,0 \pm 5,9	138,3 \pm 9,6	146,5 \pm 1,3
Pressão da massa (Bar)	20,6 \pm 0,9	27,2 \pm 0,9	18,4 \pm 5,1	23,9 \pm 0,8
Produtividade (kg/h)	182,5 \pm 17,4	174,8 \pm 15,3	178,7 \pm 18,9	225,5 \pm 3,8
Área aberta da matriz (mm ² /ton/h)	175,5 \pm 17,4	91,6 \pm 8,3	269,2 \pm 30,2	141,1 \pm 2,3
<i>Energia mecânica específica</i>				
KW-h/ton	15,9 \pm 0,6	22,3 \pm 2,4	15,6 \pm 3,9	16,5 \pm 1,7
<i>Parâmetros dos kibble</i>				
Densidade aparente (g/L)	339,0 \pm 12,7	314,8 \pm 5,0	352,3 \pm 14,6	348,0 \pm 16,7
Taxa de expansão radial	0,15 \pm 0,01	0,46 \pm 0,04	0,09 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01
Densidade específica (kg/m ³)	0,54 \pm 0,65	0,46 \pm 0,04	0,47 \pm 0,06	0,42 \pm 0,03
Comprimento específico (mm/g)	76,0 \pm 12,1	96,3 \pm 5,9	54,5 \pm 3,6	57,1 \pm 6,2
<i>Gelatinização do amido (%)</i>	94,9 \pm 0,0	100,0 \pm 7,35	88,8 \pm 5,7	92,8 \pm 2,9

A avaliação de macroestrutura dos kibbles foi realizada em 40 kibbles obtidos aleatoriamente na saída da secadora, realizando-se a mensuração do seu comprimento (mm), diâmetros (mm) e massa (gramas). A partir desses dados determinou-se a taxa de expansão radial (ER), comprimento específico (CE) e densidade específica (DE) sendo:

$$ER = \text{diâmetro}^2 / (\text{diâmetro abertura matriz}^2)$$

$$CE \text{ (mm/g)} = \text{comprimento} / \text{massa}$$

$$DE \text{ (g/cm}^3\text{)} = (4 \times \text{massa}) / ((\pi \times ((\frac{\text{diâmetro}}{2})^2 \times \text{comprimento}))$$

O índice de gelatinização do amido foi determinado pelo método da amiloglucosidase segundo (Sá et al., 2013), de modo a se acessar a qualidade de processamento e cozimento das rações.

Devido ao longo período experimental as rações foram produzidas 3 vezes ao longo do experimento, de modo aos animais receberem dietas com qualidade nutricional adequada, recém produzidas e se prevenir a ocorrência de oxidação.

4.4. Protocolos experimentais

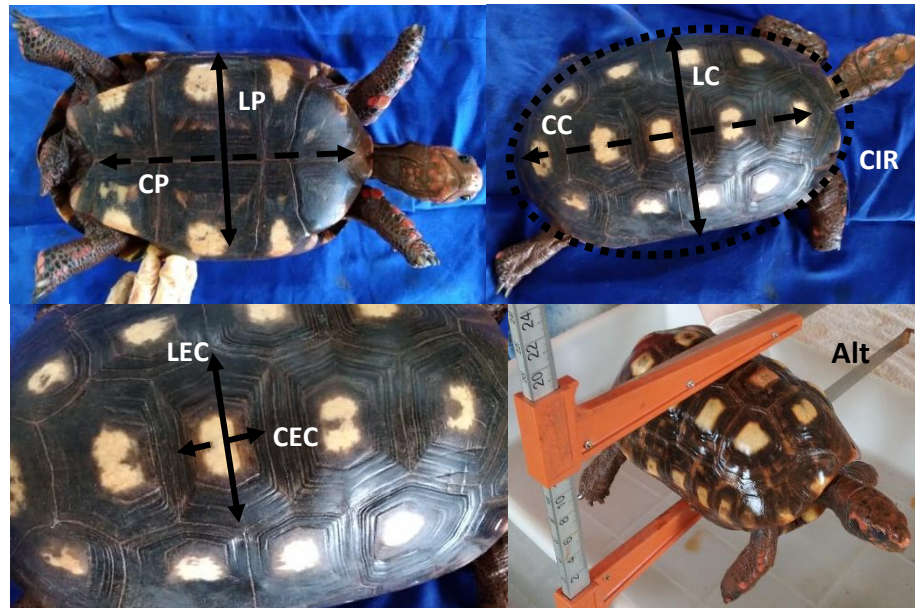
4.4.1. Avaliação morfométrica dos jabutis

O crescimento dos jabutis ao longo do período experimental foi aferido por meio de avaliação morfométrica do casco e as mudanças na composição corporal foram aferidas através do volume e densidade corporal. Para isso, as mensurações foram realizadas nos 44 jabutis a cada dois meses, no período da manhã, antes do fornecimento de alimentos.

A morfometria foi realizada utilizando-se paquímetro florestal (modelo Suta Tecmater, Tecmater, Paraná, Brasil) com capacidade máxima de leitura de 100 cm para as mensurações de Comprimento reto da carapaça (CRC), Largura Reta da Carapaça (LRC), Comprimento Reto do Plastrão (CRP), Largura Reta do Plastrão (LRP) e Altura do Casco (AC); já para as medidas de Comprimento da Curvatura da Carapaça (CCC), Largura Curva da Carapaça (LCC), Circunferência da Carapaça (CC), Comprimento da Curvatura do Plastrão (CCP), Largura Curva do Plastrão (LCP), Largura e Comprimento da Escama Central (LEC e CEC, respectivamente) foi utilizada fita métrica. As medidas do Comprimento foram do escudo nugal até o escudo caudal, o Comprimento do Plastrão seguiu do escudo cranial ao caudal, a Largura da Carapaça e do Plastrão de um escudo lateral ao seu contralateral e a Altura do casco do terceiro escudo vertebral ao escudo abdominal. Esta estão representadas na Figura 3.

O volume foi mensurado gravimetricamente por meio do deslocamento de água. Para isto o animal era submerso em tanque com água e a coluna de água deslocada pesada em balança de precisão. Após a obtenção do volume os jabutis foram pesados para o cálculo da densidade corporal, considerando-se que:

$$Densidade\ aparente(kg/dm^3) = Peso\ Corporal\ (kg)/Volume\ (dm^3)$$



LP = Largura do Plastrão; CP = Comprimento do Plastrão; CC = Comprimento da Carapaça; LC = Largura da Carapaça; CIR = Circunferência da Carapaça; Alt = Altura do Casco

Figura 3. Avaliações morfométricas dos jabutis durante o período experimental.

4.4.2. Teste de preferência alimentar

A preferência alimentar foi avaliada pelo teste de duas tigelas (Griffin, 2003), quantificando-se a preferência relativa dos jabutis pelas rações experimentais. Este ocorreu em dois momentos, ao início (avaliação individual) e final (avaliação coletiva) do período experimental. Para o teste inicial, foram utilizados 18 jabutis alojados individualmente, já para o teste final, a comparação foi feita por recinto, sendo utilizados os 3 recintos. Dessa forma, foi possível se verificar a variação da preferência entre indivíduos e coletivamente.

Quantidades *ad libitum* de cada ração foram dispostas em comedouros distintos, porém próximos, permitindo que os jabutis consumissem a de sua preferência. A quantidade oferecida e recusada foi pesada, calculando-se o consumo. A partir desse valor, foi calculada a ingestão relativa de cada dieta, de acordo com a seguinte equação:

Ingestão relativa (%)

$$= (\text{Ingestão Ração A}) / (\text{Ingestão Ração A} + \text{Ingestão Ração B}) \times 100$$

Durante a avaliação individual também foi verificada a primeira escolha dos jabutis, sendo verificada qual ração foi ingerida num primeiro momento. Para fins de repetição estatística, cada comparação entre rações foi realizada quatro vezes, em dias consecutivos, totalizando 72 observações (teste inicial) e 12 observações (teste final) por comparação: controle x amido; controle x gordura; amido x gordura.

4.4.3. Tempo de trânsito gastrointestinal

O tempo de trânsito gastrointestinal foi avaliado em seis animais de cada ração experimental, três machos e três fêmeas, utilizando como marcador o óxido férrico (Êxodo Científica, Sumaré, SP) adicionada numa proporção de 2,5% misturado à ração. As inclusões foram calculadas com relação ao peso da dieta a ser fornecida para cada animal. Para os animais que não ingeriram pelo menos 50% da ração com marcador, este foi fornecido dentro de cápsulas gelatinosas na proporção de 1% em relação ao peso da dieta e observado se o animal ingeriu a ração no dia seguinte. Os animais que permaneceram sem consumir o alimento foram retirados do teste. O horário da ingestão do marcador foi registrado para posterior cálculo dos tempos de retenção e de trânsito gastrointestinal.

Os animais permaneceram sob observação diária a cada 30 minutos, seguindo o período de atividade dos animais (7h até às 18:30h), até a eliminação completa do marcador nas fezes. Elaborou-se escala de intensidade de cor do marcador nas fezes, sendo: 1- marcador pouco visível; 2 – marcador parcialmente visível ou em metade das fezes e 3 – fezes completamente vermelhas.

O Tempo de trânsito gastrointestinal (TTG) foi calculado como o intervalo de tempo, em dias, da ingestão do alimento com o marcador até o início da sua eliminação nas fezes; já o Tempo de recuperação máxima do marcador (TM_{áx}) foi determinado como o período entre a ingestão do marcador e o surgimento das primeiras fezes sem o marcador, após eliminação das fezes coradas.

4.4.4. Ensaio de digestibilidade aparente dos nutrientes e análises químicas

Para o ensaio de digestibilidade foi adotado o método do marcador, adicionando-se óxido crômico (0,25%) nas rações experimentais. A digestibilidade aparente dos nutrientes foi avaliada em seis animais por ração, três machos e três fêmeas. Os animais foram transferidos para baias individuais de 0,90m x 0,90m x

0,60m e alimentados com aproximadamente 30 gramas da respectiva ração experimental por dia, recebendo água *ad libitum*. Para esta coleta os jabutis permaneceram nas baias individuais por aproximadamente 60 dias, sendo as fezes produzidas recolhidas ao longo do dia, pesadas, identificadas e congeladas em freezer a -20°C para posterior análise. O período de 60 dias foi estabelecido devido à necessidade de se obter quantidade suficiente de material fecal para as posteriores análises laboratoriais. Após o término do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se um pool para cada animal, sendo na sequência pré-secas a temperatura de 55°C por um período de 72 horas em estufa de ventilação forçada (Fanem, São Paulo, Brasil).

Para a realização das análises laboratoriais as fezes pré-secas e rações foram moídas em moinho de facas acoplado à peneira com furos de abertura de 1,0 mm. As rações e as fezes foram analisadas segundo AOAC (2005) quanto à matéria seca (MS; método 930.15), teor de matéria mineral (MM) por incineração em mufla (método 942.05), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA; método 954.02), fibra bruta (FB; método 962.09), fibra dietética total (FDT; método 991.43) e proteína bruta (PB; método 954.01). A matéria orgânica (MO) foi calculada como a diferença entre MS e MM. O teor de amido foi analisado como descrito por Hendrix (1993). O conteúdo de energia bruta (EB) foi determinado em bomba calorimétrica (IKA C2000 Basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, BW, Alemanha). Para análise de Ca e P os extratos foram preparados por digestão úmida em solução nitroperclórica. Ca foi analisado em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo GBC-932 AA, Scientific Equipment PTY LTD, Melbourne-Austrália) e P pelo método vanadato-molibdato (colorimetria), segundo metodologia da AOAC (2005). O óxido crômico foi analisado segundo Fenton et al. (1979) em espectrofotômetro visível a 450 nm (Labquest Bio 2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brazil).

Devido a possível contaminação das fezes com urina foi determinada a concentração de ácido úrico nas amostras fecais e os valores foram utilizados nos cálculos da digestibilidade aparente dos nutrientes. Os teores de ácido úrico foram mensurados pelo método enzimático (Labest Diagnostica Ltda, Lagoa Santa, Brasil) em analisador semi-automático Labquest (Labest Diagnostica Ltda, Lagoa Santa, Brasil). Os dados de composição química das rações (Tabela 4) e fezes foram empregados para se calcular os coeficientes de digestibilidade aparente em trato digestório total da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra bruta, extrato

etéreo ácido, amido e energia pelo método dos marcadores, de acordo com Sibbald (1982).

Tabela 4. Composição química analisada das rações experimentais para jabutis empregadas no estudo (resultados médios \pm desvio padrão dos três lotes produzidos).

Item	Pré-experimental	Dietas Experimentais		
		Controle	Amido	Gordura
<i>Composição química (% da matéria seca)</i>				
Matéria seca	92,20	92,77 \pm 1,26	93,06 \pm 1,67	93,62 \pm 2,23
Proteína Bruta	21,90	18,51 \pm 0,69	22,66 \pm 2,79	25,94 \pm 1,16
Extrato Etéreo	6,89	7,91 \pm 0,49	8,03 \pm 1,08	14,94 \pm 1,01
Fibra Bruta	13,92	17,66 \pm 1,05	6,05 \pm 0,42	7,89 \pm 0,86
Fibra Dietética Total	31,52	43,36 \pm 0,16	20,05 \pm 1,11	21,01 \pm 0,08
Amido	21,97	14,52 \pm 1,36	37,46 \pm 1,72	25,01 \pm 1,27
Matéria Mineral	7,65	7,57 \pm 0,81	6,53 \pm 0,30	7,07 \pm 0,33
Cálcio ¹	1,02	0,94	0,95	0,97
Fósforo ¹	0,85	0,86	0,84	0,86
Energia Bruta (kcal/g)	4,56	4,56 \pm 0,09	4,59 \pm 0,04	4,97 \pm 0,15
<i>Distribuição calórica da ração (% da energia metabolizável estimada)²</i>				
Proteína		24	25	26
Gordura		24	21	36
Carboidratos		52	54	38

¹ Analisados uma vez.

² Estimada considerando 3,5 kcal, 8,5 kcal e 3,5 kcal para cada grama de proteína bruta, extrato etéreo e extrativo não nitrogenado do alimento, respectivamente (Donoghue e Mckeown, 1999; Carciofi e Oliveira, 2007).

4.4.5. Produtos de fermentação microbiana e parâmetros de qualidade das fezes

Após o ensaio de digestibilidade, com os jabutis alojados individualmente, amostras de fezes recém eliminadas (no máximo 20 minutos) foram recolhidas em três defecações consecutivas para análise de ácidos graxos voláteis (ácidos acético, propiônico, butírico, isovalérico, isobutírico e valérico), ácido láctico, amônia e pH. Para isto, os jabutis foram monitorados continuamente, durante o dia, até a obtenção dos quantitativos de fezes. As fezes frescas foram então fracionadas para cada análise e congeladas à -15°C até o seu processamento.

Para a análise dos ácidos graxos voláteis e amônia, a amostra de fezes foi homogeneizada em ácido fórmico 4,2N (1:3 p/v) e centrifugada à 5000rpm e 5°C por

15 minutos. Este procedimento foi repetido por 4 vezes, mantendo-se o sobrenadante. Este foi identificado e armazenado em freezer à -15°C para posterior análise de amônia. Para a análise dos ácidos graxos voláteis foi conduzida uma quinta centrifugação do extrato, por 1 hora à 14.000 rpm e 5°C, armazenando-se o sobrenadante à -15°C para análise posterior. A obtenção dos valores dos ácidos graxos de cadeia curta e ramificada se deu por cromatografia gasosa (Finningan, modelo 9001, Finningan Corporation, San Jose, EUA) de acordo com Erwin et al. (1961). A análise de amônia foi realizada conforme descrito por Vieira (1980) mediante análise do nitrogênio amoniacal com destilação da amostra e titulação.

Para a análise do ácido láctico a amostra de fezes foi diluída em água destilada (1:3 p/v) e, então, centrifugada por três vezes a 4.500 G à 15°C, por 15 minutos, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. A leitura de ácido láctico foi realizada de acordo com Pryce (1969), em espectrofotômetro (QUICK – Lab, DRAKE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). O valor do pH das fezes foi obtido pela homogeneização das fezes em água miliQ (1:2 p/v) e análise em pH-metro de precisão (DM20, Digicrom Analítica Ltda, São Paulo, Brasil).

Neste período de coleta também foi avaliado o escore fecal qualitativamente considerando o seguinte escore: 1 - fezes líquidas e sem forma; 2 - fezes pastosas e mal-formadas; 3 - fezes macias, parcialmente formadas e úmidas; 4 - fezes bem formadas e consistentes; 5 - fezes bem formadas, mas duras e ressecadas. Considerando-se normais para jabutis as fezes com escore entre 3 e 4 (Figura 4).



Figura 4. Classificação do escore fecal de jabutis alimentados com as rações experimentais (1 - fezes líquidas e sem forma; 2 - fezes pastosas e mal-

formadas; 3 - fezes macias, parcialmente formadas e úmidas; 4 - fezes bem formadas e consistentes; 5 - fezes bem formadas, mas duras e ressecadas)

4.4.6. Análises hematológicas e de bioquímica sérica

Para as análises de bioquímica sérica foram coletadas amostras sanguíneas dos 44 jabutis, sob jejum alimentar de 24h em três períodos: antes do fornecimento das rações experimentais (dia 0), no meio do experimento (dia 183) e ao final do estudo (dias 365). A coleta do sangue foi realizada pela punção da veia jugular ou seio venoso subcarapacial, utilizando seringas de 3,0 ml acopladas a agulha hipodérmica 21 G (25 x 0,7 mm) ou 22 G (25 x 0,8 mm), selecionada de acordo com o tamanho do animal. O sangue coletado foi dividido em duas alíquotas, uma sem anticoagulante para a obtenção do soro e outra com adição de heparina sódica para avaliação hematológica. A alíquota sem anticoagulante foi centrifugada à 3500 rpm por 10 minutos para a separação da fração celular. As amostras de soro foram armazenadas em temperatura de -80°C até a análise. A partir do soro obtido foram analisadas as concentrações de Aspartato aminotransferase (AST), Fosfatase alcalina (FA), Creatina quinase (CK), Colesterol, Triglicérides, Lipoproteínas HDL e LDL, Proteína Total (PT), Albumina (Alb), Glicose (Gli) e Uréia (Ur). Para estas análises foram utilizados kits comerciais para bioquímica clínica (Labtest Diagnóstica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brasil) em analisador automático Labmax Plenno (Labtest Diagnóstica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brasil).

A análise hematológica foi realizada nas alíquotas de sangue armazenadas em tubos pediátrico contendo anticoagulante heparina sódica. O sangue obtido foi analisado para hemoglobina, hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucócitos (contagem total e diferencial). A contagem total de leucócitos e hemácias bem como a determinação dos índices hematimétricos foram realizadas conforme metodologia de Almosny e Monteiro (2007); já a contagem diferencial de leucócitos foi realizada após preparação de esfregaço sanguíneo corado com Natt-Herrick e lido em microscópio óptico (Nikon Instruments Inc., Nova York, EUA). O hematócrito foi determinado utilizando tubos de microhematócrito conforme descrito por Goldenfarb et al. (1971). A hemoglobina foi analisada com kit comercial (Labtest Diagnostica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brazil) e leitura em espectrofotômetro semiautomático (Labtest Diagnostica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brazil).

4.4.6.1. Análise das lipoproteínas plasmáticas

As lipoproteínas plasmáticas (lipoproteína de alta densidade: HDL – high density lipoprotein; lipoproteína de baixa densidade: LDL – low density lipoprotein e lipoproteína de muito baixa densidade: VLDL – very low density lipoprotein) foram determinadas por kits bioquímicos comerciais (Labtest Diagnóstica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brasil) conforme descrito anteriormente e pela metodologia de cromatografia em gel de filtração (fast lipoprotein chromatography - FPLC) em sistema de cromatografia líquida (Marz et al., 1993), em equipamento AKTA Purifier (GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Suécia). As avaliações das frações de lipoproteínas foram realizadas no Laboratório de Lípidos na Faculdade de Medicina – USP, Campus São Paulo. A realização da coleta de sangue para determinação das lipoproteínas dos 44 jabutis foi precedida por experimento piloto.

O piloto foi realizado com 6 pools de amostras, sendo 2 pools por recinto dividido em machos e fêmeas, com todos os animais sob jejum alimentar de 24 horas. Cada pool foi composto por amostras de 3 jabutis seguindo a dieta experimental e o sexo, totalizando 6mL de soro cada um. As amostras foram mantidas congeladas à -80°C até o processamento. A densidade do soro foi ajustada com brometo de potássio sólido para 1,21g/mL e transferida para tubos ultraclear (Beckman Coulter, Indianapolis, USA), onde foi formado gradiente descontínuo nas seguintes densidades: 1,063g/mL, 1,019g/mL e 1,006g/mL. As frações VLDL, IDL, LDL e HDL foram separadas por ultracentrifugação (Beckman Coulter, Indianapolis, USA) a 40000 rpm por 24 horas a 4°C no rotor de ângulo móvel SW-40 por ultracentrifugação e aspiração a vácuo. As concentrações de colesterol e triglicérides foram determinadas no soro antes da ultracentrifugação e nas diferentes lipoproteínas utilizando Kit enzimático colorimétrico (Labtest Diagnóstica Ltda, Lagoa Santa, MG, Brasil). Para avaliação individual dos animais do experimento, estes foram mantidos em jejum alimentar de 24 horas, 2 mL de sangue foi obtido mediante punção da veia jugular ou seio venoso subcarapacial utilizando seringas de 3,0 ml acopladas a agulha hipodérmica 21 G (25 x 0,7 mm) ou 22 G (25 x 0,8 mm) de acordo com o tamanho do animal. Após formação do coágulo, a amostra de sangue foi centrifugada à 3500 rpm por 10 min para a obtenção de 0,5 mL de soro. Este foi acondicionado em criotubos contendo os conservantes Benzamidina 2mM (5 µL/mL de soro) e solução de 0,5% Gentamicina com 0,25% Cloranfenicol (20 µL/mL de soro).

4.4.7. Biopsia e avaliação histológica do tecido hepático

Biopsia hepática foi realizada em seis animais por tratamento, três machos e três fêmeas ao início do consumo das rações experimentais e após 12 meses. Para a realização do procedimento os jabutis foram mantidos em jejum alimentar de 24 horas e hídrico 12 horas, sendo posteriormente anestesiados.

A indução anestésica foi realizada mediante aplicação intramuscular da associação de Cetamina (Dose: 40 mg/kg; Quetamina 100mg/mL, Vetnil, Brasil) e Midazolam (Dose: 2,0 mg/kg; Dormire 2mg/mL, Cristália, Itapira, Brasil). Após perda de reflexo postural, os jabutis foram intubados com sonda endotraqueal de 2,0 a 4,0 mm (dependendo do tamanho do animal) para a manutenção do plano anestésico com o uso de anestesia inalatória (Isoflurano 2% misturado com oxigênio; Cristália, Itapira, Brasil). Também foi realizado bloqueio anestésico epidural dos membros pélvicos com lidocaína 2% sem vasoconstritor (Hypofarma, Brasil) associado ao cloridrato de tramadol (Tramal 50mg/mL; União Química, Farmacêutica Nacional S/A, São Paulo, Brasil) com uma dose associada de 0,2 mL a cada 5 cm de comprimento de carapaça sendo 75% do volume representado pela lidocaína e o restante pelo tramal. O bloqueio foi realizado no espaço epidural das vértebras coccígeas após antisepsia com clorexidina 2% e álcool 70%. Esse protocolo foi utilizado reduzindo complicações devido ao aprofundamento do plano anestésico com os demais anestésicos (Sladky e Mans, 2012).

Após o procedimento de biópsia, a analgesia foi realizada pela aplicação subcutânea de Cloridrato de Tramadol (Dose: 5,0 mg/kg; União Química, São Paulo, Brasil) e pelo uso de antiinflamatório não esteroideal (Meloxicam 2mg/mL, OuroFino Saúde Animal, Cajamar, Brasil) numa dose de 0,1 mL/kg a cada 24 horas por três dias. Como antibioticoterapia utilizou-se Enrofloxacino 10% (Dose: 0,5 mg/kg; Agener União Saúde Animal, São Paulo, Brasil) subcutâneo a cada 24 horas por 7 dias. Quando necessário, na recuperação na anestésica foi utilizado Doxapram (Viviram – V 20mg/mL, Holliday-Scott, Argentina) na dose de 5,0 mg/kg.

O procedimento de biópsia foi realizado com auxílio de endoscópio rígido Karl Storz Hopkins II (Karl Storz, Tuttlingen, Alemanha), de 30° e com 4 mm de espessura e 18 cm de comprimento, conectado a cabo de iluminação com fibra óptica de luz fria, sendo as imagens visualizadas em monitor Triniton (Sony, San Diego, EUA). Por meio de celioscopia foram obtidos 4 fragmentos, dois de cada lobo do tecido hepático,

segundo metodologia previamente descrita (Divers, 2010). Para a obtenção das amostras de fígado foi utilizado fórceps de biópsia de endoscópico rígido, com 2,0 mm (Karl Storz, Tuttlingen, Alemanha). Atingindo-se a cavidade celomática o fígado foi visualizado e inspecionado quanto a sua coloração, conformação e tamanho relativo, e as amostras colhidas. A hemostasia foi realizada mediante compressão e caso necessário foi utilizada esponja hemostática Hemospon (Maquira, Maringá, Brasil).

Os fragmentos obtidos foram medidos e divididos para fixação em formalina tamponada 10% e para congelamento a -80°C . As amostras mantidas em formol foram embebidas em parafina e após este tratamento, foi realizado o corte seriado da amostra em $5\ \mu\text{m}$, fixado em lâminas de vidro para posterior coloração e leitura em microscópio óptico. As colorações utilizadas foram a hematoxilina eosina (HE) para as análises histológicas básicas e avaliação de vacuolização lipídica do tecido, *picrosirius red* para avaliar o grau de fibrose quando esta estivesse presente, Perls ou azul da Prússia para avaliar a presença de depósitos de hemossiderina (siderose hepática), ácido periódico de Schiff (PAS) e PAS com diastase para avaliação do depósito de glicogênio. Foi utilizado fotomicroscópio Eclipse NiU (Nikon, Japão) com câmera digital acoplada DS-U3 e *software* Ni elements (Nikon, Japão) para captura e fotodocumentação das lesões. Os fragmentos foram avaliados sistematicamente por patologista sem prévio conhecimento dos tratamentos experimentais.

O padrão de histologia hepática normal foi considerado como o descrito em Jacobson (2007) e Dutra (2014) para diferentes répteis, incluindo jabuti. O fígado para diferentes espécies de répteis, geralmente, não apresenta arranjo acinar ou lobular, as traves de hepatócitos podem ou não estarem organizados em traves com espessura de dois hepatócitos e com distribuição radiada ao redor da veia central. Os espaços-porta podem apresentar ou não artéria hepática, mas exibem ducto biliar e veia porta. A distribuição e número de melanomacrófagos é variável entre as espécies. O fragmento foi tido como adequado quando no mínimo apresentou 0-4 espaços porta e 2 a 3 campos de microscópio no aumento de 10x. Os dois fragmentos (um do lobo direito e outro do esquerdo) coletados foram analisados em conjunto qualitativamente quanto a presença de possíveis alterações morfológicas, como degeneração vacuolar micro ou macrogoticular (esteatose), balonização, inflamação, hemossiderose, lipofuscinoses. Os depósitos de glicogênio e presença de melanomacrófagos, necrose e fibrose também foram avaliados. A avaliação semiquantitativa na escala de 0 a 3 foi realizada segundo definições apresentadas na Tabela 5 para avaliação da severidade

e/ou extensão de comprometimento do fragmento. A Tabela 5 também apresenta os parâmetros avaliados e os escores atribuídos quanto a gravidade e extensão do comprometimento de cada fragmento.

Tabela 5. Parâmetros e escores de avaliação histopatológica de lesões hepáticas em jabutis (*Chelonoidis carbonaria*).

Parâmetro	Definição	Escore
Esteatose	Avaliação em aumento pequeno e médio do parênquima	
Graduação	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Localização	Padrão de distribuição predominante	
	Ao redor da veia hepática central	0
	Ao redor do espaço-porta	1
	sem zoneamento	2
	Difuso	3
Esteatose microvesicular	Padrão contínuo	
	Ausência	0
	Presença	1
Balonização	Avaliação em aumento pequeno e médio do parênquima	
Graduação	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Localização	Padrão de distribuição predominante	
	Ao redor da veia hepática central	0
	Ao redor do espaço-porta	1
	sem zoneamento	2
	Difuso	3
Hemossiderina	Ausência a < 5% em 3 focos de 10x	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Melanomacrófagos	Ausência a < 5% em 3 campos de 10x	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Glicogênio	Ausência a < 5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Lipofucsina	Ausência a < 5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Inflamação		
Parênquima (focos de inflamação)	Ausência	0
	<2 focos por objetiva de 10x	1
	2-4 focos por objetiva de 10x	2
	>4 focos por objetiva de 10x	3

Tabela 5. Parâmetros e escores de avaliação histopatológica de lesões hepáticas em jabutis (*Chelonoidis carbonaria*). Continuação

Parâmetro	Definição	Escore
Portal (linfócitos, plasmócitos, histiócitos e heterófilos)	Ausência	0
	Discreta, em alguns ou todos os espaços porta	1
	Moderada, em alguns ou todos os espaços porta	2
	Marcante, em todos os espaços porta	3
Hepatite de interface	Ausência	0
	Discreta, em alguns ou todos os espaços porta	1
	Moderada, em alguns ou todos os espaços porta	2
	Marcante, em todos os espaços porta	3
Colangite	Ausência	0
	Discreta em alguns ductos	1
	Moderada em alguns ou todos os ductos	2
	Marcante em todos os ductos	3
Siderogranulomas (agregados de histiócitos associados a pigmentos de hemossiderina)	Ausência	0
	<2 focos por objetiva de 10x	1
	2-4 focos por objetiva de 10x	2
	>4 focos por objetiva de 10x	3
Necrose		
Focal	Ausência	0
	<2 focos por objetiva de 10x	1
	2-4 focos por objetiva de 10x	2
	>4 focos por objetiva de 10x	3
Interface/em Saca bocado	Ausência	0
	Discreta, em alguns ou todos os espaços porta	1
	Moderada, em alguns ou todos os espaços porta	2
	Marcante, em todos os espaços porta	3
Fibrose		
	Ausência	0
	Perisinusoidal ou periportal	1
	Discreta ao redor de veia central, perisinusoidal	1 A
	Moderada ao redor de veia central, perisinusoidal	1 B
	Portal/ periportal	1 C
	Perisinusoidal e periportal/ portal	2
	Fibrose em ponte	3

Fonte: (Adaptado de Ishak et al. (1995) e Kleiner et al. (2005), por Di Santo, L. G. 2021).

4.4.8. Composição corporal por Absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA)

Utilizando-se a mesma indução anestésica para tomada das biópsias hepáticas, após a biópsia ao final do experimento os 18 animais foram encaminhados para a realização do escaneamento por absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA). O peso corporal foi tomado em balança de precisão e o escaneamento realizado em equipamento Discovery Wi™ DXA (Hologic, Bedford, EUA), utilizando a configuração Infant Whole Body Mode no software QRD com tempo de escaneamento de aproximadamente 3 minutos. O equipamento foi calibrado conforme recomendações do fabricante, utilizando marcadores de densidade específica (Modelos de calibração Hologic) e o escaneamento realizado duas vezes em cada

animal, permitindo possíveis correções no posicionamento. Para a avaliação, os jabutis foram posicionados numa projeção dorso-ventral com os membros e cabeça parcialmente estendidos, seguindo a distância de 1 cm da marcação do equipamento. As mensurações estimadas da composição corporal foram: Conteúdo mineral ósseo (BMC), Densidade mineral óssea (BMD), Conteúdo mineral (MC), Gordura corporal (FM) e Massa magra (LM).

4.4.9. Análise do metabolismo energético

A análise da influência da composição nutricional do alimento sobre o metabolismo energético foi realizada por dois métodos, a calorimetria indireta em câmaras de respirometria e pela água duplamente marcada (isótopos estáveis de deutério e oxigênio 18). Os mesmos animais foram empregados para os dois métodos de estudo.

4.4.9.1. Água duplamente marcada

Por meio da inoculação de isótopos estáveis de oxigênio e hidrogênio foram avaliados a produção de CO₂ por unidade de tempo, a composição de água corporal e a taxa de rotatividade da água dos jabutis, permitindo-se avaliar o efeito da dieta sobre estes três parâmetros. O protocolo de estudo com a água duplamente marcada seguiu recomendações de Nagy (1980). Os jabutis foram mantidos em jejum alimentar de 24 horas e hídrico de 12 horas antes da coleta de sangue basal para a obtenção dos valores de isótopos naturais presentes no organismo dos animais. Amostras de sangue (aproximadamente 3,0mL) foram obtidas da veia jugular ou do seio subcarapacial e imediatamente acondicionadas em eppendorfs sem adição de anticoagulante. Após a coleta de sangue basal os animais foram pesados e estabelecida a dose de enriquecimento com isótopos estáveis de deutério (99,8%; Sercon The Stable Isotope Company, Crewe, Reino Unido) e oxigênio 18 (10%; Sercon The Stable Isotope Company, Crewe, Reino Unido).

Considerando que quelônios terrestres apresentam aproximadamente 70% de água corporal foram aplicados via subcutânea 0,12g/kg de deutério e 2,0mg/kg de ¹⁸O. Foi adotado período de 17 horas para enriquecimento isotópico máximo (Henen, 1997; Jodice et al., 2006), sendo então realizada nova coleta de sangue para a determinação da incorporação dos isótopos na água corporal dos jabutis. A taxa de redução dos isótopos na água corporal foi avaliada por meio de amostras sanguíneas

colhidas após 15 dias da inoculação dos isótopos. No período final coletada também após 20 dias da aplicação. Todas as coletas de sangue foram realizadas conforme descrito anteriormente.

Após obtidas, as amostras de sangue foram centrifugadas à 3500 rpm por 10 minutos para a separação do soro, que foi transferido para criotubos, devidamente vedado com parafina filme (Parafilm, Bemis) e armazenado a -80°C até análise laboratorial. As amostras de soro foram analisadas no Laboratório de Espectrometria de Massa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, em equipamento Sistema Hydra, ANCA 20-20 (Europa Scientific, Cheshire, UK), de acordo com a metodologia e procedimentos de cálculo descritos por Ferrioli et al. (2008).

Após a obtenção dos valores basais, de enriquecimento e redução dos isótopos de deutério e Oxigênio 18 nos fluidos corporais, obteve-se os valores do Pool de água corporal (N) utilizando o deutério (Nd) ou oxigênio 18 (No), Água corporal total (TBW), Composição corporal de massa magra (LM) e de gordura (FM), Constante de eliminação dos isótopos de deutério (Kd) ou oxigênio 18 (Ko) e Produção de CO₂ (rCO₂), conforme as equações descritas abaixo.

1) Pool de água corporal (Schoeller, 1996):

$$N (mol) = \left(\frac{W \times A}{18,02 \times a} \right) \times \left(\frac{\delta a - \delta t}{\delta s - \delta p} \right)$$

Onde, W = peso de água utilizada para diluir a dose de água duplamente marcada (gramas); A = dose calculada de DLW aplicada no animal (gramas); a = massa da dose de DLW usada para fazer a Dose Diluída; δ = valores mensurados de isótopos na dose diluída (δa), na água ambiental "Tap" (δt), na amostra de soro no período de enriquecimento da água corporal (δs) e na amostra de soro no período pré-dose (δp).

2) Pool de água corporal total (Racette et al., 1994; Ellis e Wong, 1998):

$$TBW (mL) = Nd / \left(\frac{Nd}{No} \right)$$

sendo, Nd = pool de água corporal estimada utilizando deutério; No = pool de água corporal estimada utilizando ¹⁸O.

3) Composição corporal de massa magra (Pace e Rathbun, 1945):

$$LM (Kg) = \frac{TBW (kg)}{0,708}$$

na qual, TBW = água corporal total; 0,708 = constante de hidratação da massa magra para répteis (Wang et al. 1999). A porcentagem de gordura (FM), por sua vez foi calculada como um total de 100 subtraindo da massa magra (Pace e Rathbun, 1945).

4) Constante de eliminação / decaimento dos isótopos (Schoeller, 1996):

$$k = \frac{\ln Xt2 - \ln Xt1}{t2 - t1}$$

Onde, ln = logaritmo natural; Xt1 = valor analisado do isótopo da amostra do enriquecimento isotópico; Xt2 = valor analisado do isótopo da amostra na eliminação do isótopo; t1 = período, em dias, do enriquecimento isotópico; t2 = período, em dias, para eliminação do isótopo.

A produção de CO₂ foi calculada considerando a equação 35 proposta por Lifson e McClintock (1966) e posteriormente convertida a gasto energético diário segundo Elia e Livesey (1992) utilizando os valores do quociente do alimento (Black et al., 1986).

5) Produção de dióxido de carbono segundo:

$$rCO_2 \text{ (mol/dia)} = \frac{N}{2,08} (Ko - Kd) - 0,015 Kd N,$$

sendo N = pool de água corporal; Ko e Kd = constante de eliminação do ¹⁸O e deutério, respectivamente.

6) Gasto energético diário (DEE) e Quociente do alimento (FQ):

$$DEE \left(\frac{KJ}{dia} \right) = rCO_2 \times 22,4 \left(\frac{3,7}{FQ} + 1,326 \right) \times 4,18$$

$$FQ = \frac{(P \times 0,781) + (F \times 1,427) + (S \times 0,746)}{(P \times 0,996) + (F \times 2,019) + (S \times 0,746)}$$

Onde, P, F e S = teores de proteína, gordura e amido digestíveis do alimento consumido, respectivamente.

O turnover de água corporal foi calculado de acordo com as equações propostas por Nagy e Costa (1980) para determinar efluxo e influxo de água.

7) Efluxo e Influxo de água:

$$Efluxo H_2O \left(\frac{mL}{kg.dia} \right) = \frac{2,000 (W_2 - W_1) \ln \left(\frac{H_1 W_1}{H_2 W_2} \right)}{(M_1 + M_2) \ln \left(\frac{W_2}{W_1} \right) t}$$

$$Influxo H_2O \left(\frac{mL}{kg.dia} \right) = Efluxo H_2O + \frac{2,000 (W_2 - W_1)}{t (M_1 + M_2)}$$

Onde, W = volume de água corporal (mL); M = massa corporal (g); 1 e 2 = período inicial e final, respectivamente; ln = logaritmo natural; t = período em dias.

4.4.9.2. Calorimetria indireta

A mensuração do gasto energético diário também foi realizada por calorimetria indireta em câmara de respirometria. O ensaio foi realizado no período de que compreende a transição entre verão e outono no hemisfério sul (mês de março) com temperaturas de $23,15 \pm 3,81^\circ\text{C}$. Os jabutis foram mantidos sem alimento por dois dias, sendo então alimentados individualmente com 35 g da respectiva ração experimental. A ingestão alimentar do período foi registrada, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de ração. Este procedimento não teve por objetivo estabelecer o jejum por completo para obtenção da taxa metabólica de repouso em jejum, que dependeria de privação alimentar superior a 6 dias em função do elevado tempo de retenção da digesta no trato gastrointestinal (Bjorndal, 1989; Fritz et al., 2010); mas assegurar que todos os jabutis apresentassem ingestão alimentar no dia do teste de avaliação da produção de gases. Após ingestão da ração, estes foram acondicionados nas câmaras de respirometria para mensuração do consumo de O_2 e produção de CO_2 por 12 horas consecutivas.

Foram empregadas câmaras metabólicas de plástico hermeticamente fechadas com tampa de acrílico, com volume de 70L e medidas de 66,9 cm de comprimento x 43,4 cm de largura x 33,9 cm de altura, de forma a permitir discreta movimentação do animal. O fundo das câmaras foi coberto com fraldas descartáveis para absorção de urina. A temperatura interna das câmaras foi aferida utilizando termohigrômetro digital, sendo mantidas à aproximadamente 26°C .

Fluxo de ar ambiente foi inserido na câmara por sistema de pressão negativa, com fluxo médio de 0,5 L/min, com controle e ajuste promovido por bomba de fluxo de massa com vazão máxima de 2,0 L/min (AP-3500, Jeneca, China). O fluxo de ar

foi estabelecido de forma a manter saturação de CO₂ abaixo de 1,0% (CO₂ médio 0,3±0,1% e O₂ médio 20,4±0,2%) no interior das câmaras. Foi aguardado até a estabilização dos gases dentro das câmaras de respirometria para a realização das leituras. Esta foi considerada estabilizada após 30 minutos sem alteração na pressão de CO₂ e oxigênio. A amostragem de ar dos canais foi realizada por medidores de pressão independentes (RM-8 Gas Flow Multiplexer, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA). As amostras de ar dos canais foram direcionadas pelo subamostrador (SS-4 Gas Analyser Sub-sampler, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA) ao medidor de umidade (RH-300 Relative Humidity & Dew Point Analyser, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA), permitindo-se a correção da pressão relativa dos gases pela pressão de vapor de água. As concentrações de oxigênio foram aferidas por analisador paramagnético (PA-10, Sable System International, Las Vegas, NV, USA) e de CO₂ por analisador de dióxido de carbono (CA-10, Sable System International, Las Vegas, NV, USA). Antes da leitura dos gases foi retirada a umidade do ar utilizando perclorato de magnésio anidro (Êxodo Científica, Sumaré, SP, Brazil).

Os dados obtidos pelo medidor de fluxo de massa e pelos analisadores de gases foram coletados utilizando sistema ExpeData (Sable System International, Las Vegas, NV, USA). Ao início do período de avaliação foi verificada a vedação das câmaras por submersão em água garantindo total recuperação dos gases. Os cálculos para obtenção do volume de O₂ e de CO₂ foram realizados segundo sistema de respirometria aberta *push mode*, corrigindo-se o fluxo segundo as condições padrão de pressão e temperatura (Lighton, 2008). O controle e aferição dos medidores de gases foi realizado empregando-se mistura de ar padrão (CO₂: 1,0031% e O₂: 21,00%; White Martins, Vinhedo, São Paulo).

O coeficiente respiratório foi calculado considerando a razão entre CO₂ produzido e O₂ consumido, quantificando a utilização dos substratos (carboidratos, proteínas e lipídeos) presentes na dieta, pelos jabutis (Lighton, 2008). Obtidos os valores de produção de CO₂ e consumo de O₂ por unidade de tempo, estes foram empregados para se calcular a produção de calor através da equação descrita por Brouwer (1965) em McLean e Tobin (1988), desconsiderando-se a produção de metano e o nitrogênio urinário, uma vez que estes não foram mensurados no presente estudo. O gasto energético obtido por esta equação foi, ainda, comparado com os

valores obtidos pelos fatores 21,7 J/ml CO₂ produzido e 20,1 J/ml O₂ consumido descritos por Nagy e Medica (1986) e Withers (1992), respectivamente.

8) Produção de calor (HP)

$$HP \left(\frac{KJ}{dia} \right) = (16,18 \times VO_2) + (5,02 \times VCO_2) - (5,99 \times N) - (2,17 \times V_{CH_4})$$

Sendo, VO₂ = volume de oxigênio consumido, em L; VCO₂ = volume de dióxido de carbono produzido (L); N = nitrogênio urinário (g); VCH₄ = metano produzido (L).

4.5. Forma de análise dos resultados

Para a análise estatística foram previamente verificadas as pressuposições de homogeneidade de variâncias e normalidade dos erros. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado sendo a unidade experimental considerada um jabuti, com exceção da avaliação coletiva do teste de preferência na qual considerou-se cada recinto uma unidade experimental. Para os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, produtos de fermentação microbiana e respirometria foram considerados três tratamentos (rações experimentais) com seis repetições (jabutis) por tratamento. Para as análises de lipoproteínas por HPLC e composição corporal pelo DEXA foi considerado esquema fatorial 3x2 com três dietas e 2 sexos, totalizando 6 tratamentos. Os dados de hematologia, bioquímica sérica e metabolismo energético pela água duplamente marcada foram analisados como medidas repetidas no tempo considerando efeito de período, rações experimentais e sexo, bem como suas possíveis interações, com 15 repetições por ração para bioquímica e hematologia e 6 repetições por ração para água duplamente marcada. A avaliação do peso corporal e as mensurações morfométricas foram analisadas como medidas repetidas no tempo considerando efeito de período de avaliação e rações experimentais, com 15 repetições por tratamento. Quando diferenças foram detectadas no teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os dados de preferência alimentar foram avaliados individualmente e em recintos coletivos. Para a avaliação coletiva considerou-se a unidade experimental o dia de desafio dentro do recinto, com 14 repetições por comparação (controle x amido; controle x gordura; amido x gordura). Na avaliação individual a unidade experimental foram os jabutis (18 animais). Para esta análise, as médias de primeira ingestão foram comparadas pelo Teste Qui-quadrado e de razão de ingestão pelo teste T de Student

($P < 0,05$). A avaliação histológica dos fragmentos hepáticos foi realizada em dois períodos (basal e final) utilizando escores de acordo com as lesões encontradas e comparadas entre período dentro de uma mesma ração e entre dietas dentro de um mesmo período, pelo teste não paramétrico de Wilcoxon ($P < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando-se os programas estatísticos R 4.0.0 (R-Core, Viena, Áustria) e SAS (versão 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

5. RESULTADOS

5.1. Digestibilidade aparente dos nutrientes, ensaio de tempo de trânsito gastrointestinal e produtos de fermentação microbiana

O ensaio de tempo de trânsito gastrointestinal e digestibilidade aparente dos nutrientes foram realizados no período correspondente ao inverno no hemisfério sul (final de maio a agosto) com temperatura média de $18,1 \pm 1,1^\circ\text{C}$. Diferenças na digestibilidade dos nutrientes foram verificadas entre as três dietas experimentais (Tabela 6). A digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta foi maior na dieta de Amido, intermediário na Gordura e menor na Controle ($P < 0,05$). A digestibilidade da fibra bruta foi maior para dieta Gordura, intermediária em Amido e menor na Controle ($P < 0,05$). Com relação à proteína bruta, sua digestibilidade diferiu apenas entre a ração Gordura e Controle, sendo maior para a primeira ($P < 0,05$).

Diferente do observado em outras classes de animais, para os jabutis a digestibilidade aparente da gordura foi baixa. Esta foi, inclusive, menor na dieta Gordura ($P < 0,05$), que apresentava aproximadamente 87,5% a mais deste nutriente que as dietas Amido e Controle. Foi interessante e não esperado observar que os jabutis não digeriram e eliminaram nas fezes boa parte do extrato etéreo da ração Gordura. As fezes destes animais apresentaram $33,9 \pm 2,64\%$ de extrato etéreo hidrólise acida na matéria seca, valor elevado que justificou a reduzida digestibilidade aparente deste nutriente. Como comparação, o teor de extrato etéreo hidrólise ácida das fezes dos animais alimentados com as rações Controle e Amido foram, respectivamente, $10,7 \pm 1,2\%$ e $17,0 \pm 3,0\%$ ($P < 0,05$).

Tabela 6. Coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes das rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Dietas Experimentais			Valor P
	Controle	Amido	Gordura	
<i>Coeficiente de Digestibilidade Aparente (%)</i>				
Matéria Seca	63,82±1,32 ^c	79,66±1,13 ^a	73,69±0,57 ^b	<,0001
Matéria Orgânica	65,12±1,39 ^c	83,25±1,09 ^a	75,87±0,61 ^b	<,0001
Proteína Bruta	78,84±1,73 ^b	82,52±0,96 ^{ab}	84,15±0,90 ^a	0,0253
Extrato Etéreo	53,14±1,59 ^a	56,12±2,92 ^a	34,17±2,40 ^b	<,0001
Fibra Bruta	37,34±3,38 ^c	51,95±4,73 ^b	65,92±2,07 ^a	0,0003
Amido	99,92±0,02 ^a	99,93±0,02 ^a	99,82±0,02 ^b	0,0008
Energia Bruta	62,50±1,21 ^c	80,69±1,20 ^a	68,99±0,92 ^b	<,0001
<i>Energia Digestível (Kcal/g)</i>	2,86±0,05 ^c	3,70±0,06 ^a	3,36±0,05 ^b	<,0001

a,b,c – Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

O amido, por sua vez, foi bem aproveitado nas três dietas experimentais, com coeficientes de digestibilidade aparente superiores à 99%. O cozimento do amido das rações foi elevado (Tabela 3), indicando adequado processamento, o que pode ter facilitado a disponibilização deste nutriente. A combinação de elevada digestibilidade do amido e reduzida digestibilidade do extrato etéreo hidrólise ácida, especialmente na ração Gordura pode explicar o maior valor de energia digestível da ração Amido, seguido da ração Gordura e por último Controle (P<0,05). Com isto as hipóteses do estudo não foram totalmente confirmadas pois elevada porcentagem de gordura não resultou em elevada energia digestível e absorção deste nutriente por jabutis, mas elevado amido resultou em dieta com alta energia digestível.

Durante a avaliação do tempo de retenção da digesta no trato gastrointestinal, o consumo diário das rações experimentais foi semelhante (P=0,219), sendo de 2,01±0,35, 1,59±0,60 e 1,22±0,32 g de ração na matéria natural por quilograma de peso corporal, respectivamente, para as dietas Controle, Amido e Gordura. Apesar da diferença numérica nos valores de tempo de trânsito gastrointestinal, a elevada variação individual se sobressaiu às diferenças de resultados obtidos para as dietas experimentais e estatisticamente não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 7). Houve apenas tendência a maior tempo de retenção gastrointestinal para dieta Controle, sendo este 44% maior que para a dieta Gordura (P=0,075).

Com relação aos parâmetros de qualidade fecal, é possível observar que a produção de fezes dos jabutis alimentados com a dieta Controle foi aproximadamente 59% superior ao dos alimentados com a dieta Amido ($P < 0,05$), demonstrando a contribuição da fibra na formação do bolo fecal. Esta dieta também resultou na produção de fezes com escore mais elevado que a ração Gordura ($P < 0,05$). O teor de umidade e pH não diferiu nas fezes dos jabutis alimentados com as diferentes rações experimentais ($P > 0,05$).

Tabela 7. Tempo de trânsito gastrointestinal e tempo de recuperação máximo do marcador, parâmetros de qualidade fecal e concentração de produtos de fermentação microbiana nas fezes de jabutis alimentados com as rações experimentais (média \pm erro padrão da média).

Parâmetros	Diets Experimentais			Valor P
	Controle	Amido	Gordura	
Tempo de trânsito gastrointestinal (dias)	6,2 \pm 1,1	3,7 \pm 0,6	3,5 \pm 0,7	0,075
Tempo de recuperação máximo do marcador (dias)	10,0 \pm 1,4	13,8 \pm 3,4	13,5 \pm 2,8	0,577
<i>Parâmetros fecais</i>				
Produção de fezes (g/animal/dia), matéria natural	16,2 \pm 3,9 ^a	3,8 \pm 1,4 ^b	5,7 \pm 1,1 ^b	0,002
Escore fecal	3,5 \pm 0,17 ^a	3,0 \pm 0,32 ^{ab}	2,3 \pm 0,17 ^b	0,023
Matéria seca (%)	26,9 \pm 1,57	27,1 \pm 2,05	23,7 \pm 1,67	0,252
pH	7,56 \pm 0,19	7,29 \pm 0,26	6,87 \pm 0,09	0,121
<i>Produtos de fermentação intestinal microbiana (mmol/g fezes, na MS)</i>				
Ácidos Graxos Voláteis Totais	95,7 \pm 21,0	90,2 \pm 29,7	105,2 \pm 34,5	0,776
Ácidos Graxos Cadeia Curta	84,4 \pm 18,3	80,6 \pm 26,4	93,6 \pm 29,8	0,782
Ácido Acético	54,9 \pm 13,7	54,5 \pm 19,7	61,6 \pm 21,4	0,960
Ácido Propiônico	22,1 \pm 4,6	19,7 \pm 4,8	23,1 \pm 5,4	0,763
Ácido Butírico	7,44 \pm 1,94	6,38 \pm 2,70	8,87 \pm 3,17	0,373
Ácidos Graxos Cadeia Ramificada	11,2 \pm 3,1	9,5 \pm 3,4	11,6 \pm 4,8	0,742
Ácido Isobutírico	5,84 \pm 2,00	4,97 \pm 2,71	7,14 \pm 3,22	0,431
Ácido Isovalérico	4,18 \pm 1,04	3,35 \pm 0,61	3,24 \pm 0,96	0,706
Ácido Valérico	1,20 \pm 0,21	1,23 \pm 0,36	1,25 \pm 0,69	0,997
Amônia (mMol/kg fezes, na MS)	112,0 \pm 9,5 ^b	213,4 \pm 10,7 ^a	193,3 \pm 12,6 ^{ab}	0,040
Lactato (mMol/kg fezes, na MS)	8,67 \pm 0,80	11,48 \pm 1,82	14,39 \pm 3,16	0,154

^{a,b} – Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

As concentrações de ácidos graxos voláteis e lactato foram também semelhantes entre tratamentos ($P > 0,05$). Diferentemente do esperado, a dieta Controle não proporcionou maiores teores destes produtos de fermentação nas fezes. Apenas os teores de amônia foram menores em Controle quando comparados a

Amido ($P = 0,040$). Este resultado pode ser decorrente da menor proteína bruta da ração Controle em relação às demais, ou por eventual maior incorporação deste composto como nitrogênio microbiano, resultante de maior disponibilidade de energia para metabolismo microbiano propiciado pela elevada fibra alimentar.

5.2. Teste de preferência, consumo, peso corporal e mensurações morfológicas

O teste de preferência individual indicou que alimentos com maiores teores de amido ou gordura são mais palatáveis para os jabutis, em detrimento à fibra ($P < 0,001$; Tabela 7). Esses resultados são verificados também na primeira ingestão, que associa tanto olfato quanto paladar na escolha do alimento. Os jabutis apresentaram primeiramente interesse pelas dietas com maiores teores de gordura ou amido, porém verifica-se que a maior parte dos animais consumiram primeiro a dieta rica em gordura. Avaliando a preferência dos jabutis coletivamente, manteve-se o padrão de ingestão sendo a ração Gordura a mais ingerida, seguida pela Amido e por último Controle ($P < 0,05$).

Tabela 8. Teste de preferência alimentar individual e por recinto, e avaliação da primeira ingestão dos jabutis frente às dietas experimentais.

Teste	Dietas Experimentais			Valor P
	Controle	Amido	Gordura	
<i>Teste Preferência por Indivíduo (ingestão em %)</i>				
Controle x Amido	11,5	88,5	-	<,0001
Controle x Gordura	11,2	-	88,8	<,0001
Amido x Gordura	-	47,1	52,9	0,718
<i>Teste Preferência por Recinto (ingestão em %)</i>				
Controle x Amido	25,4	74,6	-	0,002
Controle x Gordura	14,9	-	85,15	<,0001
Amido x Gordura	-	41,1	58,9	0,049
<i>Primeira Ingestão (% de escolha)</i>				
Controle x Amido	22,8	77,2	-	0,016
Controle x Gordura	15,5	-	84,5	0,021
Amido x Gordura	-	33,8	66,2	0,186

Durante todo o período experimental os jabutis apresentaram consumo adequado das rações. Os dados obtidos confirmam a forte influência da temperatura na atividade dos jabutis, durante o inverno (junho a agosto) o consumo das três dietas caiu de modo importante (Figura 5). Entre as rações experimentais, o consumo foi semelhante seguindo o mesmo padrão ao longo do ano, com pico de ingestão entre março e abril, possivelmente como preparação do organismo para o inverno e a restrição alimentar consequente.

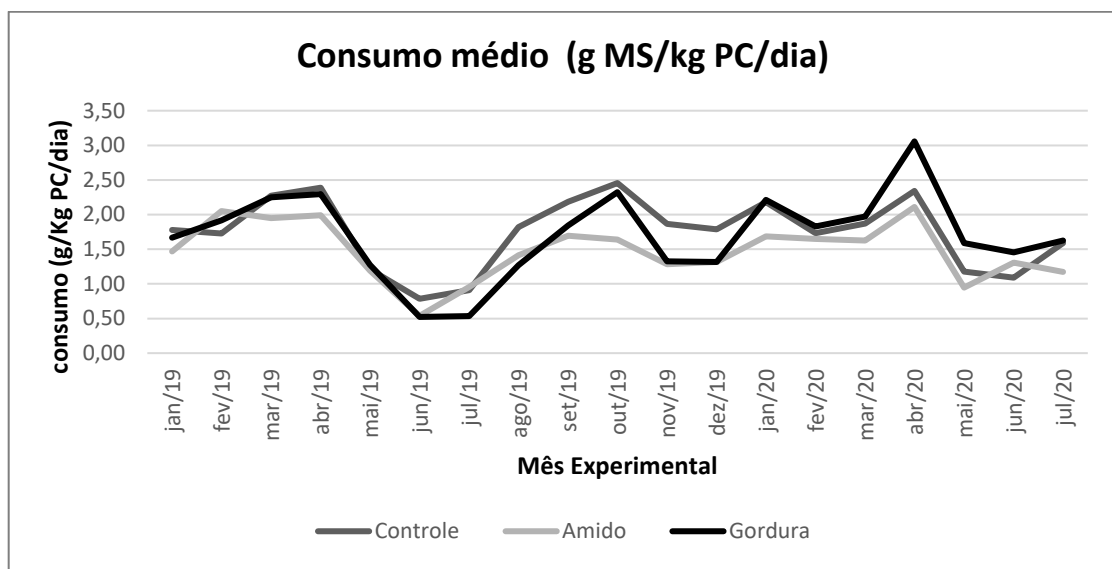


Figura 5. Consumo médio das rações experimentais verificado nos recintos ao longo do experimento.

No primeiro ano experimental (2019) o inverno foi mais rigoroso, com temperaturas mínimas de $5,7 \pm 3,6^\circ\text{C}$ e máxima de $34,2 \pm 1,7^\circ\text{C}$. Neste período o consumo alimentar foi de apenas $0,97 \pm 0,06 \text{g MS/kg/dia}$, o que corresponde à redução de 49% em comparação ao período de verão ($1,90 \pm 0,03 \text{g MS/kg/dia}$), que apresentou temperaturas mínimas de $20,3 \pm 1,9^\circ\text{C}$ e máxima de $33,2 \pm 3,2^\circ\text{C}$ (Figura 6).

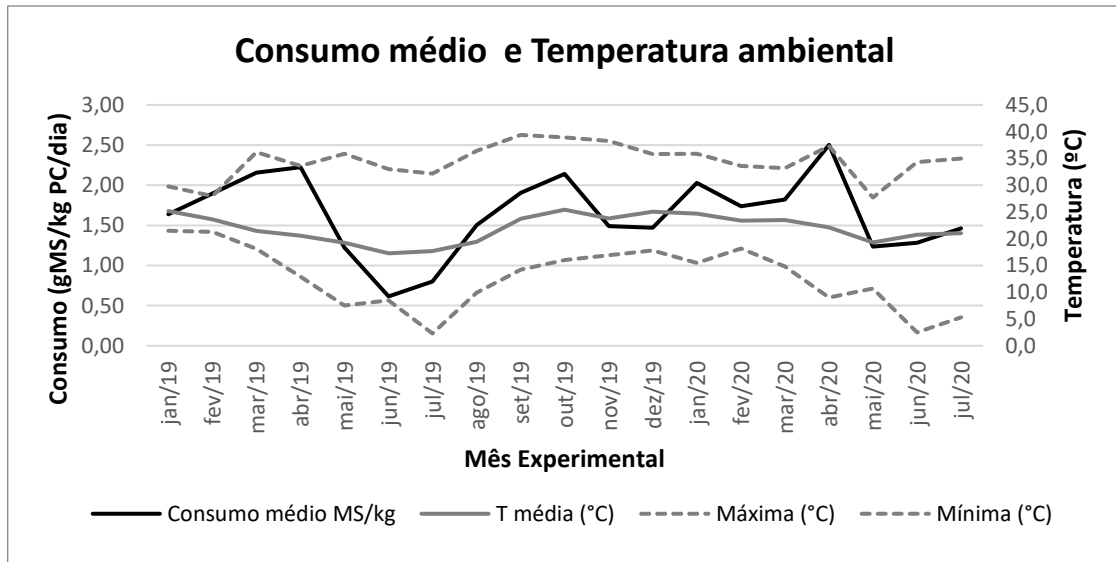


Figura 6. Temperatura mínima, média e máxima e consumo médio das rações experimentais (média de Controle, Amido e Gordura; g MS/kg/dia) ao longo do experimento.

Com relação ao consumo médio de nutrientes verificado ao longo do período experimental, nos recintos (Tabela 9), foi verificada ingestão semelhante de alimento entre as dietas, com valor médio de $1,64 \pm 0,06$ g de MS/kg/dia ($P=0,237$).

Tabela 9. Consumo médio de ração e nutrientes digestíveis e peso corporal ao início e final do período experimental (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Período ¹	Dietas Experimentais			Média	Valor P ²
		Controle	Amido	Gordura		
Matéria seca		1,74 \pm 0,12	1,47 \pm 0,09	1,70 \pm 0,14	1,64 \pm 0,06	0,237
Proteína		0,27 \pm 0,02 ^b	0,29 \pm 0,02 ^b	0,37 \pm 0,03 ^a	0,31 \pm 0,02	0,005
Fibra		0,119 \pm 0,008 ^a	0,044 \pm 0,002 ^c	0,065 \pm 0,006 ^b	0,076 \pm 0,005	<,0001
Extrato Etéreo		0,077 \pm 0,005 ^{ab}	0,065 \pm 0,004 ^b	0,090 \pm 0,007 ^a	0,079 \pm 0,004	0,014
Amido		0,28 \pm 0,02 ^c	0,62 \pm 0,03 ^a	0,42 \pm 0,03 ^b	0,44 \pm 0,03	<,0001
Energia (kcal/kg PC/dia)		5,38 \pm 0,36	6,08 \pm 0,39	6,14 \pm 0,51	5,84 \pm 0,25	0,378
<i>Peso Corporal (kg)</i>						
	Basal	5,48 \pm 0,54	5,71 \pm 0,66	5,64 \pm 0,70	5,61 \pm 0,36	0,942
	Final	6,09 \pm 0,54	6,10 \pm 0,68	6,30 \pm 0,94	6,16 \pm 0,40	
	Média	5,58 \pm 0,30	5,74 \pm 0,36	5,73 \pm 0,43		
<i>Peso Corporal acumulado ⁴</i>						
	gramas	490,7 \pm 115,4	397,9 \pm 111,9	307,9 \pm 100,2	491,4 \pm 75,4	0,503
	%	8,64 \pm 1,88	6,86 \pm 1,95	5,82 \pm 1,50	7,91 \pm 1,19	0,536

a,b,c – Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Basal – dia 0, início do período experimental; Final – 545 dias de ingestão das dietas experimentais.

² Não houve efeito estatístico de período ($P = 0,257$) e da interação entre dieta e período ($P > 0,05$) para o parâmetro Peso Corporal.

³ Valores calculados a partir dos dados de consumo ao longo do período experimental (19 meses).

⁴ Valor calculado como Peso final – Peso inicial.

Como proposto pelas formulações o consumo de fibra foi maior na ração Controle, o de amido maior na ração Amido e o de gordura maior na ração Gordura

($P < 0,05$). No entanto, a digestibilidade do extrato etéreo ácido foi inesperadamente baixo na ração Gordura, de modo a reduzir seu valor de energia digestível (Tabela 6) e a relação proteína bruta:energia ser elevada. Com isto o consumo de proteína bruta, que foi estabelecido para ser semelhante a partir do balanceamento da contribuição da proteína na energia metabolizável do alimento (Tabela 4), não ocorreu e a ingestão de proteína bruta foi maior na ração Gordura ($P < 0,05$). A ingestão de energia digestível não diferiu entre as dietas ($P = 0,387$), acompanhando o consumo de matéria seca e o valor de energia disponível do alimento.

De início os jabutis foram pesados semanalmente, para verificar se estavam ingerindo adequadamente as rações e mantendo ou ganhando peso corporal. Após a fase inicial, estes passaram a ser pesados mensalmente (Figura 7). Embora sem diferença estatística ($P = 0,257$) nem efeito do tipo de alimento, houve ganho mais ou menos regular de peso corporal, com aumento médio de $491,4 \pm 75,4$ gramas por animal no período. Estes dados demonstram que a ingestão e composição nutricional das rações foram adequadas, mantendo a condição corporal dos animais.

A manutenção do peso corporal acompanhou o consumo semelhante de energia digestível pelos animais que receberam as três dietas experimentais. A variação de consumo verificado ao longo do ano, de acordo com a temperatura ambiental, não se refletiu em interrupção do padrão de ganho ou em perda de peso corporal, sinalizando serem apenas ajustes de ingestão resultantes da influência da temperatura na taxa metabólica de repouso. Assim, nos meses com temperatura mais elevada (primavera-verão) o consumo médio de energia digestível dos jabutis foi maior, com média de $6,47 \pm 1,04$ kcal/kg/dia do que nos meses mais frios (outono e inverno), com média de $5,06 \pm 2,23$ Kcal/kg/dia ($P = 0,003$), mas sem influência sobre o peso corporal dos indivíduos.

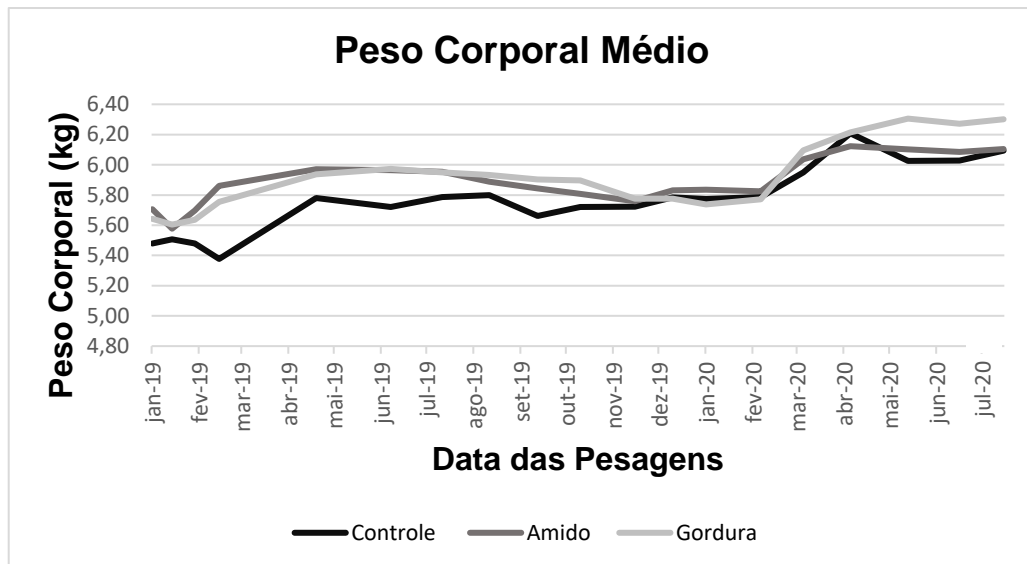


Figura 7. Peso corporal médio dos jabutis alimentados com as rações experimentais ao longo do período experimental.

As medidas biométricas da carapaça, o volume e a densidade dos jabutis permaneceram semelhantes ao longo do estudo ($P > 0,05$; Tabela 10). No entanto, acompanhando o ganho de peso numérico, todas as médias biométricas também apresentam aumento numérico nos indivíduos, indicando padrão contínuo de crescimento independentemente da dieta. O crescimento de algumas estruturas do casco foi influenciado pelo sexo, como a curvatura do comprimento da carapaça (1,1 mm/mês para fêmeas e 1,6 mm/mês para machos; $P = 0,011$) e a largura do plastrão (0,2 mm/mês para fêmeas e 0,1mm/mês para machos; $P = 0,042$). As fêmeas, independente da dieta também apresentaram volume corporal 30% maior que o dos machos ($6,09 \pm 0,52$ e $4,27 \pm 0,31$ cm³, respectivamente; $P = 0,003$).

Tabela 10. Morfometria dos jabutis alimentados com as dietas experimentais ao longo do período experimental. (Média ± Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Período ¹	Dietas Experimentais			Média	Valor P ²	
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período
<i>Comprimento da Carapaça (cm)</i>							
	Basal	29,52±0,86	29,81±1,28	30,03±1,16	29,79±0,62	0,558	0,319
	Final	30,63±0,90	30,74±1,12	30,62±1,20	30,66±0,61		
	Média	30,08±0,62	30,28±0,84	30,32±0,82			
<i>Largura da Carapaça (cm)</i>							
	Basal	18,68±1,18	18,36±1,18	19,58±1,18	18,87±0,68	0,537	0,521
	Final	19,41±1,18	18,84±1,18	20,22±1,18	19,49±0,68		
	Média	19,05±0,83	18,60±0,84	19,90±0,83			
<i>Circunferência da Carapaça (cm)</i>							
	Basal	85,45±3,24	86,11±3,31	87,30±3,24	86,29±1,89	0,920	0,615
	Final	87,46±3,24	87,31±3,31	88,13±3,24	87,63±1,89		
	Média	86,46±2,29	86,71±2,34	87,72±2,29			
<i>Comprimento do Plastrão (cm)</i>							
	Basal	23,38±0,79	23,87±0,81	23,43±0,79	23,56±0,46	0,864	0,476
	Final	23,99±0,79	24,21±0,81	23,87±0,79	24,02±0,46		
	Média	23,69±0,56	24,04±0,58	23,65±0,56			
<i>Largura do Plastrão (cm)</i>							
	Basal	16,96±0,98	17,32±0,98	18,19±0,98	17,49±0,57	0,470	0,769
	Final	17,27±0,98	17,52±0,98	18,39±0,98	17,73±0,57		
	Média	17,12±0,69	17,42±0,70	18,29±0,70			
<i>Altura (cm)</i>							
	Basal	15,03±0,93	14,61±0,94	14,78±0,93	14,81±0,54	0,805	0,776
	Final	15,49±0,93	14,71±0,94	14,88±0,93	15,03±0,54		
	Média	15,26±0,66	14,66±0,66	14,83±0,66			
<i>Volume (cm³)</i>							
	Basal	5,80±0,90	6,00±0,98	5,59±0,93	5,79±0,54	0,919	0,768
	Final	6,44±0,90	5,69±0,91	5,92±0,90	6,02±0,52		
	Média	6,12±0,64	5,85±0,67	5,79±0,65			
<i>Densidade aparente (kg/dm³)</i>							
	Basal	1,06±0,04	1,12±0,03	1,08±0,04	1,09±0,03	0,146	0,272
	Final	1,07±0,04	1,19±0,05	1,11±0,05	1,13±0,03		
	Média	1,06±0,03	1,15±0,03	1,10±0,03			

¹ Basal – dia 0, início do período experimental; Final – 365 dias de ingestão das dietas experimentais.

² Não houve efeito estatístico na interação entre dieta e período (P>0,05).

5.3. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos

Com relação aos exames hematológicos (Tabelas 11), a maioria dos valores estão dentro da referência para a espécie (Bergamini, 2016). As contagens de hemácias no momento basal, independentemente da dieta, demonstram leve quadro

de anemia ($0,33 \pm 0,01 \times 10^6$ cél/ μ L), com melhora no perfil ao longo do período de ingestão das rações experimentais, atingindo valor máximo após 365 dias de consumo dos alimentos ($P < 0,001$). Essa discreta anemia é acompanhada por valores mais elevados no volume corpuscular médio (VCM) durante o período basal ($P < 0,001$), indicando possível anemia regenerativa, com liberação de hemácias jovens e a recuperação do quadro ao longo da ingestão das rações experimentais. Não foi verificada a presença de hemoparasitas em todas as avaliações hematológicas.

Tabela 11. Parâmetros hematológicos dos jabutis ao longo de 12 meses de consumo das rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Dietas Experimentais			Médias ¹	Valor P			
	Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período ²	Sexo	
<i>Eritrograma</i>								
Hemácias (10^6 cél/ μ L)	Basal	0,34 \pm 0,02	0,34 \pm 0,02	0,33 \pm 0,03	0,33 \pm 0,01 ^C	0,589	<,001	<,001
	Dia 183	0,45 \pm 0,04	0,46 \pm 0,03	0,50 \pm 0,05	0,47 \pm 0,02 ^B			
	Dia 365	0,61 \pm 0,05	0,65 \pm 0,04	0,64 \pm 0,04	0,63 \pm 0,03 ^A			
	Dieta	0,46 \pm 0,03	0,47 \pm 0,03	0,49 \pm 0,03				
	Fêmea	0,39 \pm 0,02	0,44 \pm 0,03	0,45 \pm 0,04	0,42 \pm 0,02			
	Macho	0,53 \pm 0,04	0,50 \pm 0,04	0,52 \pm 0,04	0,52 \pm 0,02			
Hemoglobina (g/dL)	Basal	7,25 \pm 0,44	6,58 \pm 0,35	7,28 \pm 0,03	7,03 \pm 0,22 ^B	0,188	<,001	0,027
	Dia 183	5,83 \pm 0,25	6,04 \pm 0,20	6,51 \pm 0,04	6,13 \pm 0,16 ^C			
	Dia 365	5,47 \pm 0,63	8,32 \pm 0,45	8,91 \pm 0,04	8,56 \pm 0,30 ^A			
	Dieta	7,18 \pm 0,31	6,95 \pm 0,25	7,51 \pm 0,03				
	Fêmea	6,80 \pm 0,39	6,86 \pm 0,33	7,17 \pm 0,32	6,94 \pm 0,20			
	Macho	7,53 \pm 0,48	7,02 \pm 0,36	7,78 \pm 0,38	7,44 \pm 0,24			
Hematócrito (%)	Basal	27,7 \pm 1,0	27,6 \pm 1,0	28,0 \pm 1,4	27,7 \pm 0,6	0,024	0,166	<,001
	Dia 183	25,3 \pm 1,3	26,1 \pm 1,0	28,1 \pm 1,3	26,5 \pm 0,7			
	Dia 365	26,3 \pm 1,1	26,0 \pm 0,9	29,6 \pm 1,2	27,3 \pm 0,6			
	Dieta	26,4 \pm 0,7 ^b	26,5 \pm 0,6 ^b	28,6 \pm 0,7 ^a				
	Fêmea	23,9 \pm 0,7	24,9 \pm 0,9	25,2 \pm 0,7	24,6 \pm 0,5			
	Macho	28,6 \pm 0,8	27,8 \pm 0,6	31,2 \pm 0,9	29,2 \pm 0,5			
<i>Índices hematimétricos³</i>								
VCM (fL)	Basal	839 \pm 30	834 \pm 24	834 \pm 21	836 \pm 15 ^A	0,992	<,001	0,503
	Dia 183	584 \pm 36	592 \pm 40	577 \pm 33	584 \pm 20 ^B			
	Dia 365	451 \pm 41	394 \pm 25	452 \pm 33	435 \pm 20 ^C			
	Dieta	625 \pm 32	617 \pm 33	616 \pm 29				
	Fêmea	636 \pm 46	624 \pm 48	637 \pm 49	633 \pm 27			
	Macho	615 \pm 44	611 \pm 47	601 \pm 47	609 \pm 24			

^{a,A} – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Médias dos períodos e do sexo.

² Período de coleta: Basal – início do período experimento, dia 0; Dia 183 – avaliação após 183 dias de consumo das dietas experimentais; Dia 365 – 365 dias de consumo das dietas experimentais.

Tabela 11. Parâmetros hematológicos dos jabutis ao longo de 12 meses de consumo das rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média). Continuação.

Parâmetros	Diets Experimentais			Médias ¹	Valor P			
	Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período ²	Sexo	
CHCM ³ (%)	Basal	27,6±1,8	23,9±1,0	26,8±1,7	26,1±0,9 ^B	0,600	<,001	0,038
	Dia 183	23,2±0,5	23,3±0,4	24,2±0,8	23,6±0,3 ^C			
	Dia 365	31,8±1,5	32,6±1,6	31,9±1,3	32,1±0,8 ^A			
	Dieta	27,5±0,9	26,4±0,9	27,7±0,9				
	Fêmea	28,2±1,2	27,6±1,1	28,7±1,3	28,2±0,7			
	Macho	26,9±1,5	25,5±1,3	26,9±1,2	26,5±0,8			
<i>Leucograma</i>								
Leucócitos (10 ³ cél/μL)	Basal	6,08±0,52	5,53±0,32	5,73±0,49	5,79±0,26 ^B	0,350	<,001	0,154
	Dia 183	6,07±0,67	4,46±0,52	4,20±0,56	4,92±0,36 ^B			
	Dia 365	11,57±3,36	12,31±3,16	8,87±1,63	10,89±1,60 ^A			
	Dieta	7,91±1,19	7,43±1,18	6,28±0,66				
	Fêmea	9,51±2,45	8,18±2,52	7,39±1,21	8,42±1,25			
	Macho	6,50±0,59	6,88±0,88	5,52±0,74	6,28±0,43			
Heterófilos (10 ³ cél/μL)	Basal	3,54±0,40 ^{Ba}	3,48±0,33 ^{Ba}	3,36±0,48 ^{Ba}	3,46±0,23	0,011	<,001	0,000
	Dia 183	2,68±0,26 ^{Ca}	2,72±0,44 ^{Ca}	2,47±0,32 ^{Ca}	2,62±0,19			
	Dia 365	4,67±0,65 ^{Ab}	4,75±0,76 ^{Ab}	6,36±1,72 ^{Aa}	5,21±0,61			
	Dieta	3,61±0,29	3,57±0,30	3,85±0,56				
	Fêmea	3,92±0,49 ^{Ab}	3,45±0,56 ^{Ab}	5,45±1,31 ^{Aa}	4,21±0,47			
	Macho	3,35±0,33 ^{Aa}	3,66±0,30 ^{Aa}	2,89±0,33 ^{Ba}	3,29±0,19			
Linfócitos (cél/μL)	Basal	1594±153	1163±172	1412±188	1453±111	0,406	0,133	0,235
	Dia 183	1940±323	544±143	657±162	1068±163			
	Dia 365	1682±319	1280±234	1285±215	1412±148			
	Dieta	1741±155	1043±131	1115±119				
	Fêmea	1850±242	911±209	1285±147	1425±133			
	Macho	1647±204	1022±134	987±176	1215±105			
Basófilos (cél/μL)	Basal	608±116	385±112	419±119	475,8±67	0,278	0,281	0,723
	Dia 183	831±145	679±139	469±111	659±78			
	Dia 365	582±172	501±98	365±65	475±68			
	Dieta	678±83	527±71	418±57				
	Fêmea	509±110	601±110	428±102	509±62			
	Macho	811±115	473±94	410±67	563±57			
Eosinófilos (cél/μL)	Basal	124±35	106±35	74±30	101±19 ^B	0,109	<,001	0,897
	Dia 183	205±41	153±34	113±29	158±21 ^B			
	Dia 365	323±61	310±76	224±58	287±38 ^A			
	Dieta	220±30	191±34	136±25				
	Fêmea	228±49	183±46	112±31	178±26			
	Macho	212±37	198±48	152±37	187±24			
Monócitos (cél/μL)	Basal	194±61	144±57	140±46	160±32	0,649	0,584	0,586
	Dia 183	161±27	1478±30	73±14	127±15			
	Dia 365	140±32	56±20	137±30	114±16			
	Dieta	167±25	120±24	115±18				
	Fêmea	135±29	142±45	133±26	137±20			
	Macho	191±38	101±24	1023±24	133±18			

^{a,A} – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Médias dos períodos e do sexo.

² Período de coleta: Basal – início do período experimento, dia 0; Dia 183 – avaliação após 183 dias de consumo das dietas experimentais; Dia 365 – 365 dias de consumo das dietas experimentais.

³ VCM- Volume corpuscular médio; HCM – Hemoglobina corpuscular média; CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média.

Tanto para contagem de hemácias quanto para a concentração de hemoglobina houve efeito de sexo, com os machos demonstrando valores 19% e 7%, maiores, respectivamente, quando comparados às fêmeas ($P < 0,01$). Para todos os parâmetros avaliados não houve interação dieta, sexo e período ($P > 0,05$), com exceção de para heterófilos ($P = 0,001$). Estes apresentaram menores valores para a coleta no inverno (Dia 183) e maior aporte celular após um ano de ingestão das dietas experimentais, especialmente para as fêmeas ingerindo a ração Gordura ($P < 0,01$). Houve efeito de sexo e período para a maioria dos parâmetros hematológicos avaliados e efeito da dieta apenas quanto ao hematócrito e valores absolutos de heterófilos, ambos mais elevados na dieta Gordura em relação às demais ($P = 0,011$).

Para a maioria dos parâmetros bioquímicos séricos (Tabela 12) também houve efeito de sexo e período ($P < 0,05$), embora todos os valores encontram-se dentro do esperado para a espécie (Pereira, 2015; Bergamini, 2016). Houve interação entre dieta e sexo apenas para fosfatase alcalina ($P = 0,001$), creatinina quinase ($P = 0,001$) e albumina ($P = 0,023$). A concentração das enzimas hepáticas FA e AST foram menores em jabutis alimentados com a ração Controle do que Amido e Gordura ($P < 0,01$). Estas também apresentaram efeito de sexo, sendo FA maior nas fêmeas e AST maior nos machos ($P < 0,01$). Apesar destas diferenças, os valores encontram-se dentro da referência não sendo indicativo de lesões hepáticas.

Tabela 12. Parâmetros bioquímicos dos jabutis ao longo de 12 meses de consumo das rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média).

Parâmetros ¹		Dietas			Média ²	Valor P		
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período ³	Sexo
Glicose (mg/dL)	Basal	80,7±4,6	69,4±7,0	75,3±3,9	75,3±3,0 ^A	0,713	<,001	0,003
	Dia 183	49,5±3,0	53,7±2,9	51,5±3,1	51,5±1,7 ^B			
	Dia 365	79,4±4,4	69,7±4,60	70,0±5,2	72,7±2,8 ^A			
	Dieta	69,2±3,2	64,3±3,1	65,6±2,8				
	Fêmea	66,0±5,3	56,7±4,5	60,6±3,5	61,2±2,6			
	Macho	71,8±4,0	70,0±3,9	69,0±4,0	70,2±2,3			
AST (UI/L)	Basal	109,3±9,7	136,4±11,4	137,7±19,0	127,8±8,4	0,007	0,659	0,001
	Dia 183	100,4±12,7	154,2±22,9	153,6±22,8	134,8±11,8			
	Dia 365	120,8±14,3	183,4±28,3	103,3±15,4	137,1±12,8			
	Dieta	110,2±7,2 ^b	158,6±13,0 ^a	133,1±11,6 ^a				
	Fêmea	102,8±12,9	123,9±12,7	105,7±13,3	110,3±7,5			
	Macho	116,3±7,6	184,3±19,0	154,6±16,7	151,2±9,2			
Fosfatase alcalina (UI/L)	Basal	53,7±4,7	50,5±4,7	61,8±7,4	55,7±3,4 ^A	0,009	0,003	<,001
	Dia 183	53,4±3,0	66,9±6,5	62,4±6,3	60,9±3,2 ^{AB}			
	Dia 365	63,8±6,3	66,4±6,5	67,8±10,8	66,0±4,6 ^B			
	Dieta	56,8±2,8 ^b	67,8±3,6 ^a	63,8±4,6 ^{ab}				
	Fêmea	68,2±4,7 ^{Aa}	78,3±5,7 ^{Ab}	93,8±5,9 ^{Ac}	79,8±3,4			
	Macho	48,8±2,3 ^{Ba}	50,8±3,2 ^{Ba}	46,1±3,2 ^{Ba}	48,5±1,7			
Creatina quinase (UI/L)	Basal	649±116	377±58	514±81	513±52 ^B	0,210	<,001	0,856
	Dia 183	1164±165	1145±325	1204±167	1298±130 ^A			
	Dia 365	767±135	959±177	661±120	788±83 ^B			
	Dieta	862,6±86,6	961±144	784±84				
	Fêmea	730±114 ^{Aa}	1320±313 ^{Ab}	607±118 ^{Aa}	864±119			
	Macho	983±97 ^{Ba}	710,5±86,5 ^{Ba}	906±111 ^{Ba}	867±59			
Proteína Total (g/dL)	Basal	4,59±0,21	5,02±0,26	4,78±0,17	4,87±0,15	0,235	0,551	0,000
	Dia 183	4,43±0,23	4,46±0,28	5,21±0,26	4,69±0,16			
	Dia 365	4,42±0,18	4,87±0,25	4,71±0,36	4,66±0,16			
	Dieta	4,48±0,12	4,78±0,15	4,90±0,16				
	Fêmea	4,11±0,17	4,25±0,25	4,98±0,31	4,41±0,14			
	Macho	4,82±0,13	5,15±0,16	4,85±0,17	4,94±0,09			
Albumina (g/dL)	Basal	1,57±0,13	1,65±0,13	1,71±0,19	1,64±0,09 ^A	0,044	0,046	<,001
	Dia 183	1,50±0,05	1,35±0,06	1,67±0,11	1,49±0,05 ^B			
	Dia 365	1,61±0,13	1,64±0,12	1,80±0,30	1,68±0,11 ^A			
	Dieta	1,55±0,06 ^b	1,54±0,06 ^b	1,73±0,12 ^a				
	Fêmea	1,78±0,11 ^{Ab}	1,73±0,14 ^{Ac}	2,34±0,26 ^{Aa}	1,92±0,10			
	Macho	1,35±0,05 ^{Ba}	1,41±0,04 ^{Ba}	1,37±0,06 ^{Ba}	1,38±0,03			
Ureia (mg/dL)	Basal	48,3±5,1	33,3±3,7	41,3±4,2	41,3±2,7	0,028	0,349	<,001
	Dia 183	42,5±5,5	40,4±6,7	64,1±8,8	49,0±4,3			
	Dia 365	45,8±4,4	43,5±5,5	49,8±6,0	46,4±3,0			
	Dieta	45,6±2,9 ^{ab}	39,1±3,1 ^b	51,5±4,0 ^a				
	Fêmea	38,8±4,5	27,1±3,3	34,9±3,6	34,0±2,4			
	Macho	51,5±3,2	48,3±4,0	62,3±5,1	54,4±2,5			

^{a,A} – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ AST- Aspartato aminotransferase.

² Médias do período e do sexo.

³ Período de coleta: Basal – início do experimento, dia 0; Dia 183 – 183 dias de consumo das dietas experimentais; Dia 365 – 365 dias de consumo das dietas experimentais.

A glicemia dos jabutis foi menor na coleta do dia 183 ($P < 0,001$), que coincide com o inverno, período de menor ingestão alimentar devido a temperatura ambiental. Tanto proteína total quanto albumina foram maiores nas fêmeas ($P < 0,01$), sendo o teor de albumina superior nas fêmeas ingerindo a dieta Gordura ($P = 0,023$). A concentração de ureia foi maior nas fêmeas e nos jabutis ingerindo a dieta Gordura, com menores valores sendo encontrados na Amido ($P < 0,05$).

O valores de perfil lipídico dos jabutis permaneceram dentro da faixa de referência para a espécie (Dutra, 2014; Pereira, 2015; Bergamini, 2016). Alguns parâmetros foram influenciados pela dieta ingerida e sexo ($P < 0,01$), conforme demonstrado na Tabela 13. Durante o período experimental os jabutis mantiveram o comportamento reprodutivo normal. Houve oviposição em todos os recintos, distribuída praticamente ao longo de todo o ano. Isto justifica as diferenças entre sexo no metabolismo de lipídeos, pois fêmeas elevam a síntese de triglicérides e colesterol para formação do vitelo. Fêmeas apresentam, assim, maior valor de colesterol que machos ($P = 0,001$). Interação sexo*dieta foi detectada, sendo os valores de colesterol menores nos machos alimentados com ração Controle ($P < 0,05$). Triglicérides apresentaram apenas efeito de sexo, quase 10 vezes maior das fêmeas do que nos machos ($P < 0,001$). Houve, ainda efeito de dieta para colesterol, sendo este maior para jabutis alimentados com ração Gordura do que Amido ($P < 0,05$), tendo a ração Controle resultado em valores intermediários.

Quanto às frações de lipoproteínas, machos apresentaram maior HDL e fêmeas maior LDL ($P < 0,01$). Os valores de LDL foram também maiores para jabutis alimentados com a ração Gordura em relação a Controle e Amido ($P = 0,002$). Para os teores de HDL e LDL houve, também, interação entre o sexo e a dieta ingerida ($P = 0,001$ e $P = 0,046$, respectivamente). A lipoproteína HDL foi maior nos machos ingerindo a dieta Amido em relação às rações Controle e Gordura ($P < 0,05$). As fêmeas ingerindo a ração Gordura apresentaram maiores concentrações de LDL do que as ingerindo Amido ($P < 0,05$), enquanto nos machos os teores de LDL foram mais elevados na dieta Amido em relação à Controle ($P < 0,05$), demonstrando diferenças quanto ao sexo em suas respostas metabólicas ao alimento consumido.

Tabela 13. Perfil lipídico sérico de jabutis-piranga alimentados por 12 meses com as rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média).

Parâmetros ¹		Dietas			Média ²	Valor P		
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período ³	Sexo
Colesterol (mg/dL)	Basal	186,3±23,9	154,0±18,3	187,0±30,4	176,8±14,4	0,021	0,203	<,001
	Dia 183	174,1±16,7	209,6±19,8	229,1±26,7	203,5±12,5			
	Dia 365	170,8±21,6	158,2±13,9	182,5±30,7	175,5±13,7			
	Dieta	177,1±11,9 ^{ab}	174,8±10,7 ^b	203,8±17,0 ^a				
	Fêmea	249,0±10,4 ^{Ab}	212,9±20,9 ^{Ab}	316,1±20,6 ^{Aa}	259,4±11,2			
	Macho	114,2±7,3 ^{Bb}	149,5±8,2 ^{Ba}	130,4±8,8 ^{Bab}	131,3±4,9			
Triglicérides (mg/dL)	Basal	340,2±85,6	247,6±86,6	329,9±116,7	307,2±55,5	0,838	0,233	<,001
	Dia 183	177,1±41,1	199,9±48,4	212,1±64,7	196,3±29,7			
	Dia 365	261,5±78,5	175,4±61,1	260,2±96,1	233,0±45,4			
	Dieta	259,6±41,4	207,6±38,2	267,6±54,0				
	Fêmea	490,3±54,1	400,4±54,1	625,5±84,1	502,5±39,7			
	Macho	57,7±10,7	57,7±10,7	42,2±8,4	53,8±6,1			
<i>Lipoproteínas (mg/dL)</i>								
HDL	Basal	21,1±2,2	31,1±4,5	27,4±3,3	26,4±2,0	0,072	0,483	<,001
	Dia 183	21,3±2,7	24,5±4,8	23,5±2,9	23,1±2,0			
	Dia 365	21,7±2,8	29,5±3,3	27,5±4,1	26,1±2,0			
	Dieta	21,4±1,5	28,4±2,4	26,1±2,0				
	Fêmea	18,6±2,1 ^{Aa}	15,1±2,4 ^{Ba}	20,8±2,7 ^{Ba}	18,2±1,4			
	Macho	23,9±1,9 ^{Ab}	38,3±2,1 ^{Aa}	29,7±5,6 ^{Ab}	30,6±1,5			
LDL	Basal	97,7±11,3	87,4±8,3	95,9±10,6	94,0±5,9 ^B	0,002	0,019	0,003
	Dia 183	110,7±13,7	125,2±12,8	154,3±13,3	129,1±8,1 ^A			
	Dia 365	93,9±10,1	85,9±8,5	102,9±14,9	94,4±6,6 ^B			
	Dieta	100,8±6,7 ^b	99,8±6,5 ^b	116,7±8,3 ^a				
	Fêmea	131,1±8,0 ^{Aab}	98,1±11,3 ^{Ab}	157,3±11,9 ^{Aa}	129,7±6,6 ^A			
	Macho	74,2±7,0 ^{Bb}	100,9±8,0 ^{Aa}	93,2±8,3 ^{Bab}	89,5±4,6 ^B			

^{a,A} – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹ HDL – Lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade.

² Médias do período e do sexo.

³ Período de coleta: Basal – início do experimento, dia 0; Dia 183 – 183 dias de consumo das dietas experimentais; Dia 365 – 365 dias de consumo das dietas experimentais.

5.3.1. Avaliação das Lipoproteínas plasmáticas por cromatografia líquida

Com o piloto, foi possível se detectar os picos das frações de lipoproteínas e se indicar para cada sexo as concentrações médias das frações de colesterol e triglicérides nas lipoproteínas séricas, validando o método para jabutis-piranga (Figura 8; Apêndice 1). Após essa avaliação prévia, amostras de soro de todos os

animais foram coletadas no mês de agosto, com temperatura média de $21,2 \pm 3,1$ (Máxima: $29,5 \pm 3,8$ e Mínima: $13,9 \pm 3,0$).

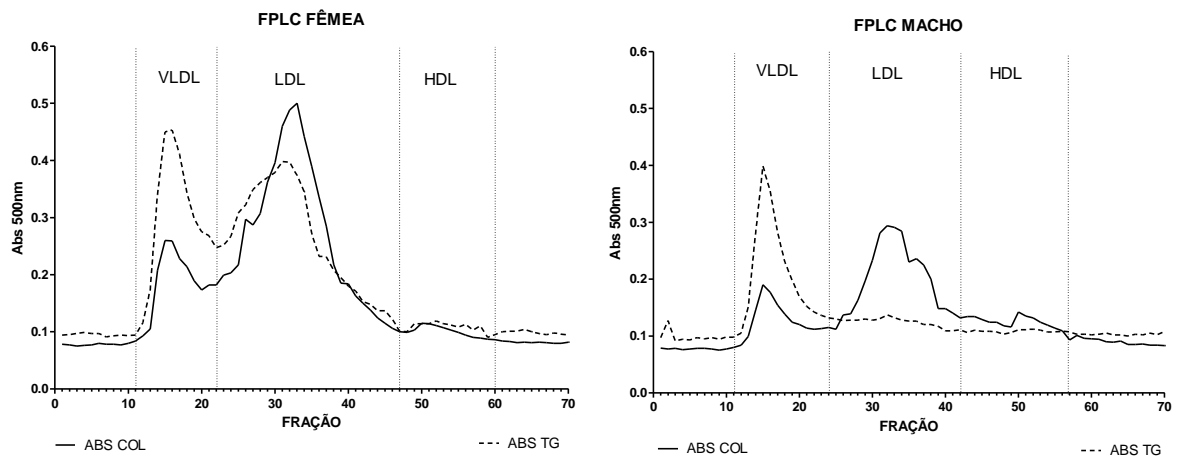


Figura 8. Perfil das lipoproteínas plasmáticas de jabutis adultos, machos e fêmeas.

Em relação ao colesterol e triglicérides em mg/dL (Tabela 14), a concentração de colesterol na fração VLDL foi superior nas fêmeas ingerindo a dieta Gordura em comparação a fêmeas nas rações Amido e Controle, sendo no geral maior em fêmeas do que nos machos ($P < 0,01$). Na fração LDL o colesterol foi também maior nas fêmeas, mas dentre as fêmeas mais elevado nas que receberam a dieta Controle ($P < 0,05$). Já para triglicérides, estes foram mais elevados na fração VLDL em fêmeas e nestas maiores nas alimentadas com a ração Gordura do que nas demais ($P < 0,05$). Na fração LDL triglicérides foram maiores para fêmeas e, dentre as dietas, menor para Amido e maior para Controle e Gordura ($P < 0,05$). Para HDL triglicérides apenas efeito de ração foi observado, sendo este maior nos jabutis alimentados com a ração Gordura em relação à Controle ($P < 0,05$). A somatória das concentrações de triglicérides foram 73% superiores nas fêmeas com valor máximo sendo observado nas fêmeas dieta Gordura ($P < 0,05$).

Ao se avaliar a participação do colesterol e do triglicérides na composição das frações de lipoproteínas, foi possível se observar efeito das rações experimentais na porcentagem de LDL triglicérides, maior nos animais alimentados com a ração Controle ($P = 0,03$). Interação sexo e dieta foi detectada para a porcentagem de colesterol VLDL, maior para fêmeas do que para machos e nas fêmeas menor na ração Controle do que para Amido e Gordura ($P < 0,05$). Colesterol LDL e HDL e triglicérides HDL foram maiores para machos ($P < 0,05$).

Tabela 14. Perfil de lipoproteínas plasmáticas determinados por cromatografia líquida de jabutis alimentados por 18 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros ¹	Sexo	Diets experimentais			Média	Valor P		
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Sexo	Interação
<i>Colesterol (mg/dL)</i>								
VLDL	Fêmea	93,1 \pm 25,7 ^{Ab}	128,3 \pm 16,1 ^{Ab}	206,3 \pm 18,3 ^{Aa}	132,2 \pm 16,3	0,117	< 0,01	0,002
	Macho	20,4 \pm 4,7 ^{Ba}	31,2 \pm 10,4 ^{Ba}	17,2 \pm 7,3 ^{Ba}	23,2 \pm 4,5			
	Média	54,3 \pm 15,2	72,8 \pm 15,9	86,0 \pm 29,7				
LDL	Fêmea	204,9 \pm 33,4 ^{Aa}	87,3 \pm 27,2 ^{Ab}	111,1 \pm 30,5 ^{Ab}	142,7 \pm 21,7	0,035	< 0,01	0,027
	Macho	76,2 \pm 12,0 ^{Ba}	84,1 \pm 18,2 ^{Aa}	62,5 \pm 15,6 ^{Aa}	74,8 \pm 8,7			
	Média	136,2 \pm 23,6 ^a	85,3 \pm 14,7 ^b	82,8 \pm 16,5 ^b				
HDL	Fêmea	30,3 \pm 9,8	13,9 \pm 5,9	18,6 \pm 6,5	22,0 \pm 4,9	0,27	0,93	0,430
	Macho	23,8 \pm 4,8	23,2 \pm 4,5	15,7 \pm 4,8	21,1 \pm 2,7			
	Média	26,8 \pm 5,1	19,6 \pm 3,7	16,9 \pm 3,7				
TOTAL	Fêmea	328,3 \pm 54,8	241,0 \pm 27,2	365,0 \pm 29,0	313,4 \pm 27,1	0,428	< 0,01	0,0504
	Macho	120,4 \pm 19,2	138,5 \pm 17,5	95,4 \pm 26,1	119,1 \pm 12,1			
	Média	217,4 \pm 38,3	177,9 \pm 20,3	207,8 \pm 44,2				
<i>Triglicérides (mg/dL)</i>								
VLDL	Fêmea	104,5 \pm 15,4 ^{Ac}	172,8 \pm 12,4 ^{Ab}	258,0 \pm 20,3 ^{Aa}	173,8 \pm 17,6	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	Macho	28,7 \pm 7,9 ^{Ba}	57,1 \pm 14,5 ^{Ba}	49,5 \pm 10,5 ^{Ba}	44,9 \pm 6,8			
	Média	61,2 \pm 12,9	106,7 \pm 18,5	136,4 \pm 32,5				
LDL	Fêmea	148,8 \pm 20,0	78,1 \pm 22,6	141,8 \pm 19,6	125,0 \pm 14,1	0,049	< 0,01	0,25
	Macho	25,4 \pm 7,8	24,9 \pm 6,9	55,0 \pm 19,0	34,2 \pm 7,1			
	Média	83,0 \pm 19,1 ^a	45,4 \pm 11,8 ^b	86,6 \pm 18,8 ^a				
HDL	Fêmea	9,4 \pm 3,5	5,9 \pm 1,8	12,0 \pm 5,4	9,1 \pm 2,1	0,03	0,28	0,22
	Macho	6,6 \pm 2,3	12,3 \pm 3,1	21,7 \pm 5,1	13,1 \pm 2,4			
	Média	7,5 \pm 1,9 ^b	10,1 \pm 2,3 ^{ab}	18,1 \pm 9,9 ^a				
TOTAL	Fêmea	276,3 \pm 11,8 ^{Ab}	301,0 \pm 29,4 ^{Ab}	462,0 \pm 44,1 ^{Aa}	339,7 \pm 25,5	< 0,01	< 0,01	0,026
	Macho	60,6 \pm 12,9 ^{Ba}	94,3 \pm 21,8 ^{Ba}	126,1 \pm 26,1 ^{Ba}	92,3 \pm 12,6			
	Média	153,1 \pm 30,8	182,9 \pm 33,1	266,1 \pm 54,8				
<i>Colesterol (%)</i>								
VLDL	Fêmea	25,3 \pm 5,8 ^{Ab}	50,8 \pm 10,4 ^{Aa}	65,3 \pm 8,8 ^{Aa}	44,9 \pm 6,0	0,100	< 0,01	0,012
	Macho	15,8 \pm 3,1 ^{Aa}	16,1 \pm 2,4 ^{Ba}	13,8 \pm 3,82 ^{Ba}	15,2 \pm 1,8			
	Média	20,2 \pm 3,3	32,1 \pm 6,9	35,2 \pm 8,8				
LDL	Fêmea	64,2 \pm 5,8	39,3 \pm 8,6	36,5 \pm 9,4	47,6 \pm 5,2	0,078	< 0,01	0,056
	Macho	65,4 \pm 4,5	58,6 \pm 6,9	70,2 \pm 3,8	64,5 \pm 3,1			
	Média	64,8 \pm 3,5	50,3 \pm 5,8	54,7 \pm 6,7				
HDL	Fêmea	6,1 \pm 1,5	5,3 \pm 2,5	7,1 \pm 2,5	6,2 \pm 1,2	0,84	< 0,01	0,72
	Macho	18,8 \pm 2,5	17,7 \pm 3,4	16,1 \pm 1,2	17,6 \pm 1,5			
	Média	13,4 \pm 2,3	12,9 \pm 2,8	11,9 \pm 1,8				

a,A – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹ VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade; HDL – Lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade.

Tabela 14. Perfil de lipoproteínas plasmáticas determinados por cromatografia líquida de jabutis alimentados por 18 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média). Continuação.

Parâmetros ¹	Sexo	Diets experimentais			Média	Valor P		
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Sexo	Interação
<i>Triglicérides (%)</i>								
VLDL	Fêmea	40,0 \pm 4,7	60,7 \pm 7,6	62,4 \pm 7,8	53,6 \pm 4,4	0,14	0,44	0,31
	Macho	46,5 \pm 7,4	54,7 \pm 7,2	46,4 \pm 8,2	49,3 \pm 4,2			
	Média	43,4 \pm 4,4	57,2 \pm 5,1	53,8 \pm 5,9				
LDL	Fêmea	48,6 \pm 5,6	31,0 \pm 7,3	29,6 \pm 6,1	37,0 \pm 4,0	0,03	0,90	0,59
	Macho	41,5 \pm 5,7	30,1 \pm 6,9	36,1 \pm 7,8	35,9 \pm 3,8			
	Média	44,8 \pm 4,0 ^a	30,5 \pm 4,8 ^b	33,1 \pm 4,9 ^b				
HDL	Fêmea	11,5 \pm 4,4	8,3 \pm 4,3	8,1 \pm 3,7	9,4 \pm 2,3	0,95	<0,01	0,43
	Macho	12,0 \pm 3,0	15,2 \pm 3,1	17,5 \pm 2,6	14,8 \pm 1,7			
	Média	11,8 \pm 2,5	12,3 \pm 2,6	13,2 \pm 2,5				

^{a,A} – Médias seguidas de mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹ VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade; HDL – Lipoproteína de alta densidade; LDL – Lipoproteína de baixa densidade.

A distribuição percentual de colesterol e triglicérides dentro de cada fração de lipoproteína encontra-se ilustrada na Figura 9. Colesterol foi preponderante nas moléculas de LDL dos jabutis, independente da dieta consumida, já o triglicérides teve maior participação nas moléculas de VLDL. Por ser a fração responsável pela depuração do colesterol nos tecidos, a HDL apresentou composição lipídica variável quanto a proporção de triglicerídeos e colesterol.

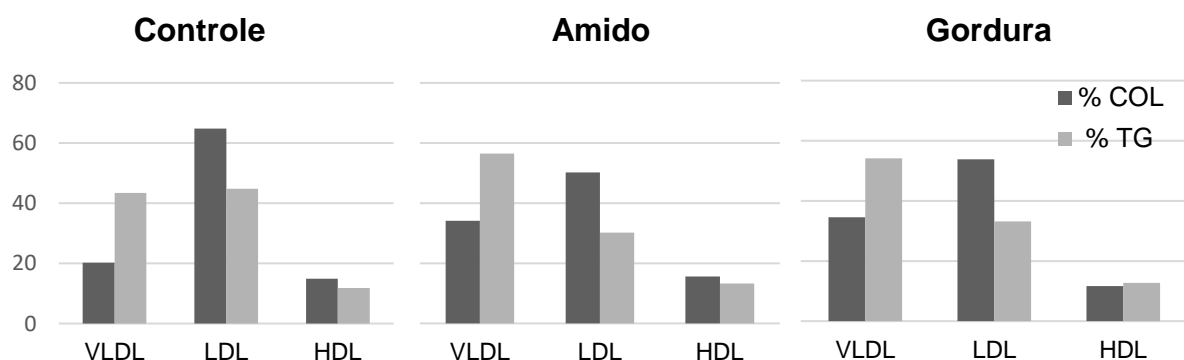


Figura 9. Distribuição percentual de colesterol e triglicerídeos dentro das frações de lipoproteínas dos jabutis alimentados com as rações experimentais.

5.4. Biópsia e avaliação histopatológica do tecido hepático

A avaliação do volume e coloração hepática durante a celioscopia revelou que dois animais (2/18) exibiam o fígado aumentado de volume (jabutis 8 e 10) e um (1/18)

redução (jabuti 16) no tempo basal (Dia 0). No tempo final, após 365 dias de consumo, dois (2/20) exibiram volume aumentado (jabutis 3 e 17) e três (3/20) volumes reduzidos (jabutis 14, 16 e 18). A coloração variou de cinza a castanho amarelado em ambos os tempos. Os resultados individuais da avaliação hepática macroscópica durante a celioscopia segundo cada dieta estão descritos no Apêndice 2. A Figura 10 mostra as características macroscópicas do fígado de jabutis durante a celioscopia.

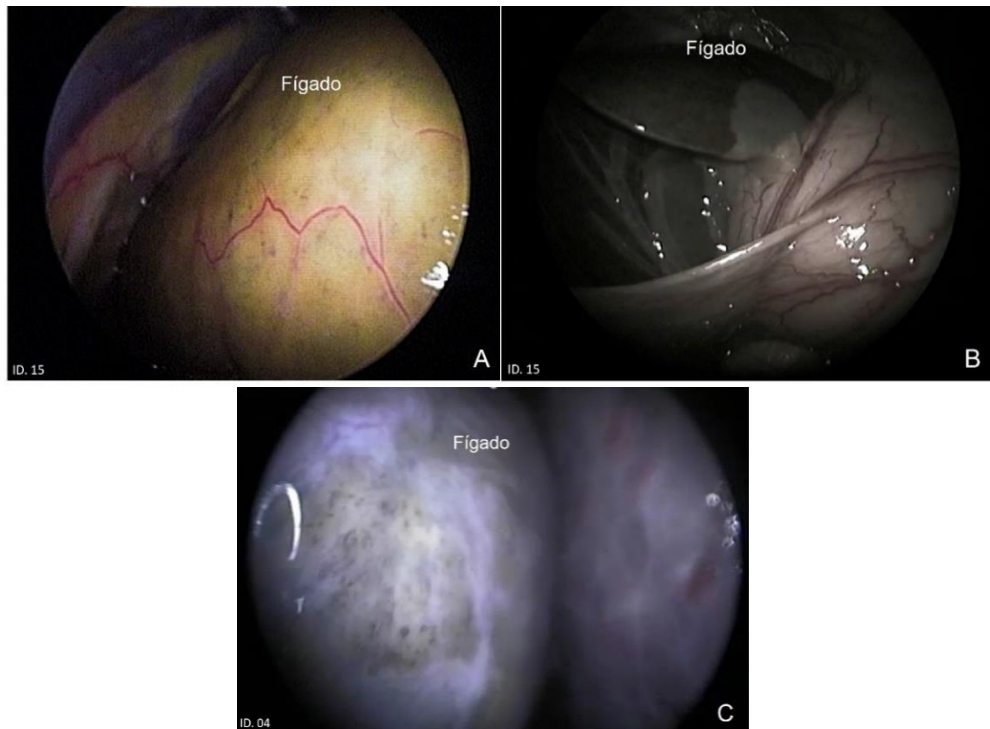


Figura 10. Aspecto macroscópico do fígado avaliado durante a biópsia. **A.** Fígado amarelo. **B.** Fígado acastanhado com área de cicatrização do primeiro procedimento de biópsia. **C.** Fígado Acinzentado.

Os grupos de dieta não exibiram diferença estatística significativa quanto a avaliação microscópica do fígado (Tabela 15; $P > 0,05$) no período basal. Os jabutis exibiam esteatose microgoticular em grau moderado (2/17) a marcante (15/17), hepatite portal linfocítica discreta em dois (2/17) e esteatohepatite em dois (2/17), fibrose perisinusoidal (8/17), periportal (2/17) e fibrose portal e perisinusoidal (1/17); hemossiderose hepática presente nos agregados de melanomacrófagos em onze jabutis (11/17) e proliferação ductuolar em sete (6/17). A Figura 11 exemplifica as características microscópicas hepáticas de jabutis no tempo basal.

Tabela 15. Avaliação histopatológica (escores de 0 a 3) dos fragmentos de tecido hepático no período basal e após 365 dias de consumo das dietas experimentais (Escore da lesão seguido da frequência de distribuição dentro destes).

Parâmetros	Período ¹	Dietas Experimentais			Valor P
		Controle	Amido	Gordura	
Degeneração esteatótica					
<i>Microvesicular</i>	Basal	3 (100%)	0 (17%), 2 (17%), 3 (67%)	3 (100%)	0,273
	Final	0 (33%), 1 (17%), 3 (50%)	2 (17%), 3 (83%)	0 (25%), 2 (12,5%), 3 (62,5%)	0,443
	Valor P	0,058	0,461	0,137	
<i>Macrovesicular</i>	Basal	0 (100%)	0 (83%), 3 (17%)	0 (100%)	0,608
	Final	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	1,000
	Valor P	1,000	0,317	1,000	
<i>Distribuição</i>	Basal	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	1,000
	Final	0 (33%), 3 (67%)	3 (100%)	0 (25%), 3 (75%)	0,397
	Valor P	0,138	1,000	0,243	
Melanomacrófagos	Basal	0 (50%), 1 (50%)	0 (33%), 1 (50%), 2 (17%)	0 (40%), 1 (60%)	0,642
	Final	0 (17%), 1 (83%)	0 (33%), 1 (67%)	0 (37,5%), 1 (37,5%), 3 (25%)	0,935
	Valor P	0,241	0,715	0,578	
Glicogênio	Basal	3 (100%)	3 (100%)	2 (40%), 3 (60%)	0,418
	Final	3 (100%)	2 (17%), 3 (83%)	1 (12,5%), 2 (37,5%), 3 (50%)	0,191
	Valor P	1,000	1,000	0,622	
Lipofucsina	Basal	0 (17%), 1 (83%)	0 (17%), 1 (83%)	0 (20%), 1 (80%)	0,971
	Final	1 (83%), 2(17%)	1 (100%)	1 (87,5%), 2 (12,5%)	0,021
	Valor P	0,176	0,317	0,163	

Tabela 15. Avaliação histopatológica (escores de 0 a 3) dos fragmentos de tecido hepático no período basal e após 365 dias de consumo das dietas experimentais (Escore da lesão seguido da frequência de distribuição dentro destes). Continuação.

Parâmetros	Período ¹	Dietas Experimentais			Valor P
		Controle	Amido	Gordura	
Hemossiderose	Basal	0 (33%), 1 (67%)	0 (33%), 1 (67%)	0 (40%), 1 (60%)	0,520
	Final	0 (33%), 2 (33%), 3 (33%)	0 (17%), 1 (67%), 2 (17%)	1 (62,5%), 2 (37,5%)	0,561
	Valor P	0,182	0,336	0,035	
Proliferação de ductos biliares	Basal	0 (83%), 1 (17%)	0 (67%), 1 (33%)	0 (40%), 1 (60%)	0,520
	Final	0 (83%), 1 (17%)	0 (67%), 1 (33%)	1 (62,5%), 2 (37,5%)	0,628
	Valor P	1,000	1,000	0,735	
Fibrose	Basal	0 (63%), 1A (17%), 1B (17%)	0 (17%), 1A (67%), 2 (17%)	0 (20%), 1A (20%), 1B (20%), 1C (40%)	0,269
	Final	1A (17%), 1C (33%), 2 (50%)	0 (33%), 1A (17%), 1C (17%), 2 (33%)	0 (25%), 1C (12,5%), 2 (37,5%), 3 (25%)	0,572
	Valor P	0,007	0,736	0,136	
Inflamação	Basal	0 (100%), 0 (6)	0 (67%), 1 (33%)	0 (60%), 1 (40%)	0,432
	Final	0 (83%), 1 (17%)	0 (83%), 1 (17%)	0 (87,5%), 1 (12,5%)	0,958
	Valor P	0,317	0,523	0,271	
Tipos celulares	Basal	0 (100%)	0 (67%), linfócitos (33%)	0 (60%), linfócitos (40%)	
	Final	0 (83%), linfócitos (17%)	0 (83%), linfócitos (17%)	0 (87,5%), heterófilos (12,5%)	

¹ Basal – início do experimento, dia 0; Final – 365 dias de consumo das dietas experimentais.

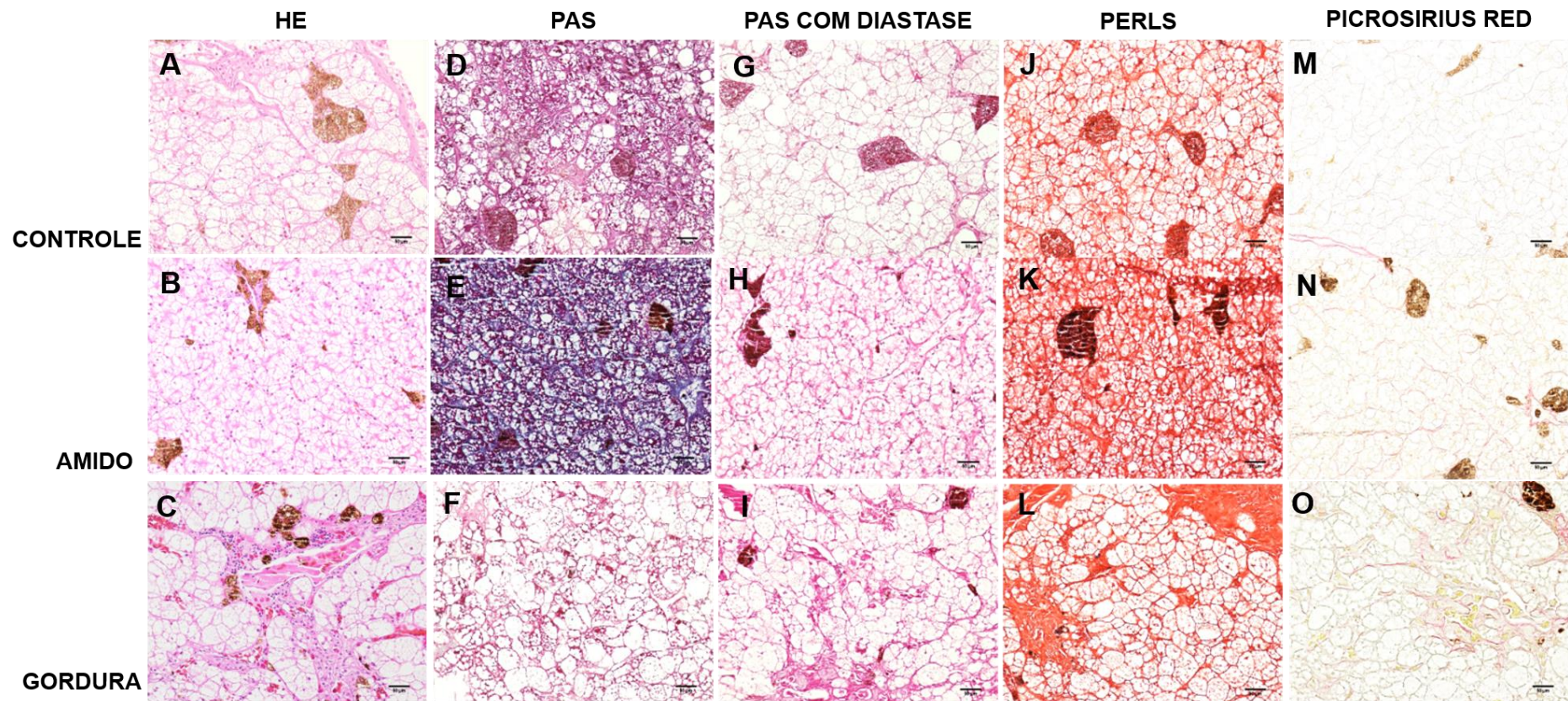


Figura 11. Características histopatológicas do tecido hepático dos jabutis no período basal (dia 0). **A - C.** Marcante esteatose microgoticular difusa nos três grupos, porém em C chama atenção esteatohepatite linfocítica e heterofílica com proliferação de ductuolar em espaço porta. Agregados de melanomacrófagos (em marrom) em escore 1 em A e B, e em escore zero em C. HE; **D - F.** Hepatócitos vacuolizados exibindo depósitos de glicogênio com escore 3 em D e E, mas escore 2 em F. PAS; **G -I.** Hepatócitos vacuolizados exibindo depósitos de pigmento de lipofuscina (em rosa) em agregados de melanomacrófagos em escore 1 em G e I e escore zero em H. PAS com diastase; **J - L.** Presença de depósitos de hemossiderina em escore 0 (até 5% das células) nos três grupos. Perls; **M - O.** Fibrose (em vermelho) perisinusoidal em N e perisinusoidal e portal em O. *Picrosirius red*. Aumento de 200x. Barra = 50 µm.

No tempo final, houve algumas mudanças histológicas com efeito da dieta apenas na presença de lipofucsina ($P = 0,021$), com todos os animais do grupo amido apresentando presença discreta deste pigmento em detrimento aos jabutis dos tratamentos Controle (discreta: 5/6, moderada: 1/6) e Gordura (discreta: 7/8, moderada: 1/8). Com relação a lipofucsina, ainda houve um efeito de período ($P = 0,024$) com maior presença desse pigmento de discreto (18/20) a moderado (2/20) no período final em comparação ao basal (ausente: 3/17 e discreto: 14/17). A presença de esteatose microgoticular marcante foi predominante nos jabutis (13/20), mas em menor proporção ao observado no início do experimento havendo redução do grau da lesão de ausente (4/20) a moderada (2/20). Hepatite portal linfocítica discreta foi verificada em dois animais (2/20) e um animal apresentando hepatite heterofílica (1/20), totalizando três jabutis com esteatohepatite (3/20). Destaca-se ainda a presença de outras alterações como fibrose perisinusoidal (11/20), portal (17/20) e fibrose portal associada a perisinusoidal (9/20), hemossiderose hepática (17/20) e proliferação ductuolar (7/20).

A hemossiderose que no período basal estava distribuída entre as classificações discreta (11/17) e ausente (6/17) passou a ser verificada nas formas marcante (2/20) e moderada (6/20) sendo discreta em nove jabutis ($P = 0,008$); houve ainda efeito de período dentro da dieta Gordura ($P = 0,035$). A progressão da fibrose também foi verificada na avaliação final ($P = 0,007$) com efeito de período dentro do grupo Controle ($P = 0,007$), predominando lesões moderadas (3/6) no período final. Dentro da dieta Controle foi possível verificar regressão da degeneração gordurosa microvesicular marcante em 100% dos jabutis para grau discreto (1/6) ou até mesmo ausente (2/6), após a ingestão da dieta. A Figura 12 exemplifica as características microscópicas hepáticas de jabutis no tempo final.

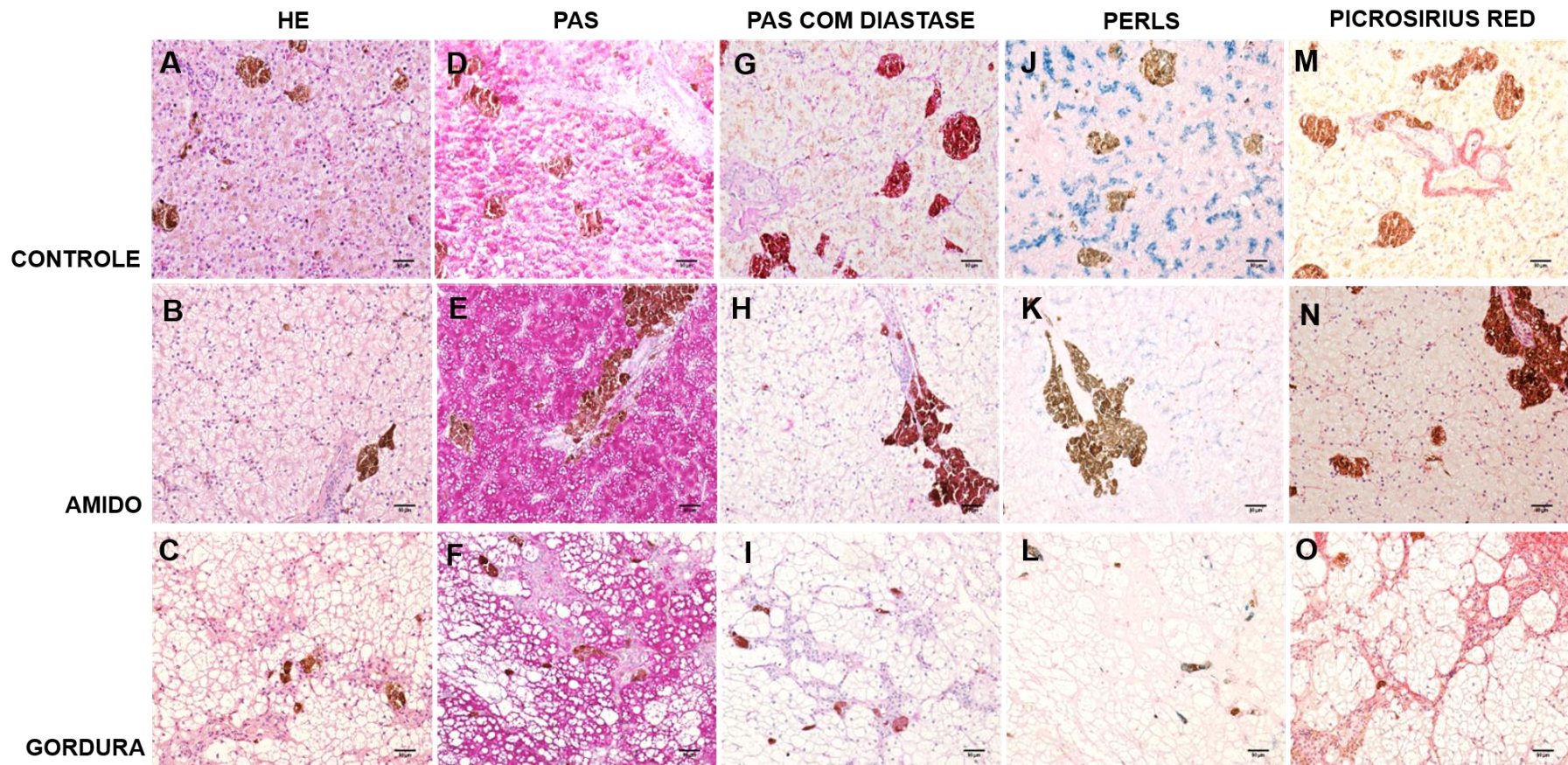


Figura 12. Características histopatológicas do tecido hepático dos jabutis no período final (Dia 365). **A - C.** Discreta (escore 1) esteatose microgoticular multifocal em A, moderada em B (escore 2) e marcante em C (escore 3). Em C, o grupo gordura apresenta esteatohepatite linfocítica e heterofílica com proliferação de ductular em espaço porta. Agregados de melanomacrófagos (em marrom) em escore 1 em A e B, e em escore zero em C. HE; **D - F.** Hepatócitos exibindo depósitos de glicogênio com escore 3 nos três grupos. PAS; **G - I.** Depósitos de pigmento de lipofuscina (em rosa) em agregados de melanomacrófagos em escore 1 nos três grupos. PAS com diastase; **J - L.** Presença de depósitos de hemossiderina em escore 2 em J, e em escore 1 em K e L. Perls; **M - O.** Fibrose (em vermelho) portal em M e N e fibrose em ponte porta - portal e perisinusoidal em O. *Picrosirius red*. Aumento de 200x, Barra = 50 µm.

5.5. Composição corporal pelo DEXA

Analisando os dados de composição corporal (Tabela 16) estabelecidos pelo DEXA, pode-se observar que não houve efeito das rações experimentais ($P > 0,05$). Devido a diferença de peso entre machos e fêmeas, a distribuição da composição corporal foi apresentada apenas com relação à porcentagem. Machos e fêmeas apresentam a mesma porcentagem de massa gorda ($P > 0,05$). As fêmeas, por outro lado, apresentaram maior porcentagem de massa magra, menor conteúdo mineral (%) e menor densidade mineral óssea (g/cm^2) do que os machos ($P < 0,05$).

Tabela 16. Composição corporal dos jabutis alimentados com as rações experimentais por 12 meses. Valores analisados por absorciometria de raios-X de dupla energia -DEXA (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Sexo	Diets			Média	Valor P ¹	
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Sexo
Densidade Mineral Óssea	Macho	0,66 \pm 0,04	0,62 \pm 0,02	0,62 \pm 0,01	0,63 \pm 0,01	0,666	0,007
	Fêmea	0,54 \pm 0,06	0,51 \pm 0,07	0,53 \pm 0,04	0,53 \pm 0,03		
	Média	0,60 \pm 0,04	0,57 \pm 0,04	0,58 \pm 0,02			
Gordura Corporal	Macho	8,0 \pm 0,13	8,3 \pm 0,22	8,2 \pm 0,06	8,2 \pm 0,08	0,633	0,504
	Fêmea	8,3 \pm 0,03	8,2 \pm 0,11	8,2 \pm 0,04	8,2 \pm 0,04		
	Média	8,1 \pm 0,08	8,3 \pm 0,11	8,2 \pm 0,03			
Massa Magra	Macho	85,0 \pm 0,7	86,2 \pm 0,5	86,6 \pm 0,2	85,3 \pm 0,3	0,419	<0,001
	Fêmea	87,1 \pm 0,5	87,4 \pm 0,4	87,5 \pm 0,2	87,3 \pm 0,2		
	Média	86,0 \pm 0,6	86,6 \pm 0,4	86,2 \pm 0,5			
Conteúdo Mineral	Macho	7,0 \pm 0,8	5,6 \pm 0,3	5,4 \pm 0,3	6,6 \pm 0,3	0,312	<0,001
	Fêmea	4,6 \pm 0,5	4,4 \pm 0,4	4,3 \pm 0,2	4,4 \pm 0,2		
	Média	5,8 \pm 0,7	5,1 \pm 0,4	5,6 \pm 0,5			

¹ Não houve efeito estatístico na interação entre dieta e sexo ($P > 0,05$).

5.6. Análise do metabolismo energético pela água duplamente marcada

Durante as coletas os animais foram alimentados e mantidos nos recintos coletivos, com possibilidade a atividade e interação com os demais jabutis, permitindo a expressão de comportamentos rotineiros. A temperatura ambiental média no período do ensaio com a água duplamente marcada foi de: 24,3 \pm 1,3°C na avaliação basal, em março e abril de 2019; e 22,1 \pm 1,5°C na avaliação final, em abril de 2020. Não houve diferença entre o peso corporal dos jabutis ingerindo as três rações experimentais (Tabela 17), mas foi verificado efeito de sexo sendo as fêmeas mais

pesadas que os machos ($7,73 \pm 0,42$ kg e $5,60 \pm 0,45$ kg, respectivamente; $P = 0,037$). A composição corporal permaneceu semelhante para todos os grupos e se demonstrou constante, independentemente da ração experimental consumida por 365 dias ($P > 0,05$).

Tabela 17. Peso e composição corporal, produção de CO₂ e gasto energético diário de jabutis-piranga alimentados por 12 meses com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Período	Dietas Experimentais			Média	Valor P ¹	
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período
Peso Corporal (kg)	Basal	5,97 \pm 0,53	7,13 \pm 0,95	6,87 \pm 1,53	6,68 \pm 0,60	0,456	0,790
	Dia 365	6,59 \pm 0,72	7,06 \pm 0,73	5,80 \pm 0,68	6,52 \pm 0,42		
	Média	6,28 \pm 0,44	7,09 \pm 0,56	6,26 \pm 0,74			
<i>Composição corporal (%)</i>							
Água	Basal	59,39 \pm 0,20	58,14 \pm 1,27	60,07 \pm 0,98	59,14 \pm 0,67	0,785	0,521
	Dia 365	59,12 \pm 2,85	58,92 \pm 1,24	56,35 \pm 2,25	58,11 \pm 1,13		
	Média	59,26 \pm 1,48	58,60 \pm 0,87	57,94 \pm 1,41			
Gordura	Basal	16,11 \pm 1,69	17,88 \pm 1,80	15,16 \pm 1,38	16,46 \pm 0,94	0,785	0,522
	Dia 365	16,49 \pm 4,03	16,79 \pm 1,74	20,41 \pm 3,18	17,92 \pm 1,59		
	Média	16,30 \pm 2,08	17,24 \pm 1,23	18,16 \pm 1,99			
Massa Magra	Basal	83,89 \pm 1,69	82,12 \pm 1,80	84,84 \pm 1,38	83,54 \pm 0,94	0,785	0,522
	Dia 365	83,51 \pm 4,03	83,21 \pm 1,74	79,60 \pm 3,18	82,08 \pm 1,59		
	Média	83,70 \pm 2,08	82,76 \pm 1,23	81,84 \pm 1,99			
<i>Produção de CO₂</i>							
mL/h	Basal	308,8 \pm 74,4	409,4 \pm 70,9	406,1 \pm 127,9	380,4 \pm 52,6	0,997	0,015
	Dia 365	271,7 \pm 40,2	169,9 \pm 26,9	221,5 \pm 28,7	221,0 \pm 20,1		
	Média	287,2 \pm 37,2	289,6 \pm 49,3	306,7 \pm 63,8			
mL/kg/h	Basal	48,15 \pm 8,40	58,85 \pm 6,27	47,09 \pm 14,78	52,24 \pm 5,41	0,587	0,099
	Dia 365	45,05 \pm 8,99	34,37 \pm 7,01	42,57 \pm 6,31	40,38 \pm 4,24		
	Média	46,34 \pm 6,05	45,79 \pm 5,63	44,45 \pm 6,80			
<i>Gasto energético diário</i> ²							
KJ/dia	Basal	177,7 \pm 42,8	235,1 \pm 40,7	232,2 \pm 73,1	218,2 \pm 30,1	0,998	0,020
	Dia 365	156,4 \pm 23,1	97,8 \pm 15,4	126,7 \pm 16,4	126,9 \pm 11,5		
	Média	165,3 \pm 21,4	166,4 \pm 28,3	175,4 \pm 36,5			
KJ/ kg/dia	Basal	26,63 \pm 4,35	33,54 \pm 3,60	31,48 \pm 4,69	30,94 \pm 2,39	0,944	0,047
	Dia 365	25,04 \pm 4,40	19,85 \pm 4,10	24,16 \pm 3,68	22,86 \pm 2,30		
	Média	25,71 \pm 3,01	26,25 \pm 3,22	27,55 \pm 3,01			

¹ Não houve efeito estatístico na interação entre dieta e período para os parâmetros avaliados ($P > 0,05$).

² Estimado segundo Elia e Livesey (1992).

Tabela 17. Peso e composição corporal, produção de CO₂ e gasto energético diário de jabutis-piranga alimentados por 12 meses com as rações experimentais (Média ± Erro Padrão da Média). Continuação.

Parâmetros	Período	Dietas Experimentais			Média	Valor P ¹	
		Controle	Amido	Gordura		Dieta	Período
<i>Fluxo de água corporal (mL/kg/dia)</i>							
Efluxo	Basal	26,79±1,89	27,95±2,15	30,20±4,35	28,31±1,67	0,880	0,618
	Dia 365	24,94±2,27	25,71±3,69	26,58±2,57	25,78±1,74		
	Média	25,79±1,46	26,55±2,40	28,13±2,32			
Influxo	Basal	28,65±1,77	28,60±2,37	32,95±4,57	30,06±1,77	0,657	0,270
	Dia 365	25,08±2,29	25,58±3,75	26,98±2,49	25,88±1,76		
	Média	26,72±1,51	26,71±2,47	29,54±2,45			

¹ Não houve efeito estatístico na interação entre dieta e período para os parâmetros avaliados (P>0,05).

² Estimado segundo Elia e Livesey (1992).

As características das rações não induziram modificações na composição corporal nem na produção de CO₂ (P=0,997). Com isto não se verificou efeito de dieta nos parâmetros avaliados do metabolismo energético (P>0,05). Houve, no entanto, efeito do período de coleta no VCO₂ maior no período basal (P=0,015). Com isto as estimativas de gasto energético diário foram maiores no período basal quando comparadas ao final do experimento (P<0,05). Provavelmente, isto se deve à influência da temperatura ambiental, menor ao final do experimento, o que pode ter resultado em diminuição do metabolismo dos jabutis. O fluxo de água corporal não diferiu entre períodos e dietas (P>0,05). Foi detectado efeito de sexo independente de dieta, o gasto energético médio dos machos foi estimado como 20,65±2,38 KJ/kg/dia e das fêmeas e 30,77±2,13 KJ/kg/dia (P = 0,004).

5.7. Análise do metabolismo energético por calorimetria indireta

O peso médio dos jabutis utilizados no ensaio de respirometria foi semelhante entre os grupos experimentais (P>0,05), como pode ser observado na Tabela 18. Durante o ensaio não houve diferença significativa entre rações na temperatura interna das câmaras de respirometria (P > 0,05), com valor médio foi de 25,9±0,3°C, descartando a possível influência deste fator no gasto energético dos jabutis. Todos os jabutis apresentaram consumo alimentar durante o período de testes quando alojados nas câmaras de respirometria, sem diferença entre rações quanto ao consumo de matéria seca e energia digestível (P>0,05).

O consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono não apresentaram efeito de dietas experimentais ($P > 0,05$). Na comparação de sexo independente de ração, fêmeas consumiram mais oxigênio ($147,3 \pm 16,0$ e $89,9 \pm 12,5$ mL/h, respectivamente; $P = 0,021$) e produziram mais CO_2 do que machos ($126,3 \pm 18,7$ e $74,4 \pm 9,6$ mL/h, respectivamente; $P = 0,033$). No entanto, ao se computar estes parâmetros por quilograma de peso corporal, se detectou apenas tendência de diferença entre sexos, sendo o consumo de oxigênio de $26,21 \pm 3,62$ mL/Kg/h para fêmeas e de $18,51 \pm 2,85$ mL/Kg/h para machos ($P = 0,103$) e a produção de CO_2 de $22,11 \pm 3,62$ mL/Kg/h para fêmeas e de $15,32 \pm 2,85$ mL/Kg/h para machos ($P = 0,101$). Estas diferenças entre sexo, de qualquer forma, corroboram o observado no ensaio com a água duplamente marcada de maior gasto energético para fêmeas.

Tabela 18. Temperatura interna nas câmaras de respirometria, peso corporal, consumo alimentar, produção de CO_2 , consumo de O_2 e produção de calor de jabutis-piranga alimentados com as rações experimentais (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Dietas Experimentais			Média	Valor P	
	Controle	Amido	Gordura			
<i>Temperatura das câmaras (°C)</i>	26,1 \pm 0,5	25,6 \pm 0,4	26,1 \pm 0,6	25,9 \pm 0,3	0,479	
<i>Peso Corporal (kg)</i>	5,95 \pm 0,49	5,74 \pm 0,43	4,76 \pm 0,38	5,50 \pm 0,27	0,134	
<i>Consumo de matéria seca (g/dia)</i>	19,67 \pm 3,99	12,07 \pm 3,79	5,89 \pm 1,66	12,58 \pm 2,34	0,082	
<i>Consumo de energia digestível (KJ/dia)</i>	209,2 \pm 44,7	192,7 \pm 64,9	82,8 \pm 26,7	166,2 \pm 125,2	0,209	
<i>Consumo O₂</i>						
	mL/h	117,0 \pm 48,9	117,6 \pm 39,1	106,6 \pm 12,8	113,5 \pm 20,4	0,891
	mL/kg/h	20,06 \pm 4,76	21,90 \pm 5,41	22,81 \pm 2,35	21,68 \pm 3,16	0,877
<i>Produção CO₂</i>						
	mL/h	102,9 \pm 30,7	96,5 \pm 20,7	89,1 \pm 8,7	95,8 \pm 11,3	0,873
	mL/kg/h	17,42 \pm 4,76	17,74 \pm 5,41	19,07 \pm 2,35	18,11 \pm 1,96	0,931
<i>Quociente Respiratório (VCO₂/VO₂)</i>						
		0,85 \pm 0,15	0,83 \pm 0,11	0,85 \pm 0,11	0,84 \pm 0,11	0,951
<i>Gasto energético diário ¹</i>						
	KJ/dia	57,8 \pm 14,0	43,3 \pm 9,2	52,1 \pm 6,0	50,7 \pm 5,5	0,516
	KJ/ kg/dia	9,89 \pm 2,42	8,04 \pm 1,94	11,15 \pm 1,06	9,68 \pm 1,04	0,431

¹ Estimado segundo Brouwer (1965) em McLean e Tobin (1988), desconsiderando-se a produção de metano e o nitrogênio urinário.

Não houve efeito dos tratamentos no quociente respiratório, com valor médio de 0,84 ($P>0,05$). Estes valores condizem com os obtidos para o quociente do alimento, calculados a partir dos dados de proteína, amido e gordura digestíveis, que foi de 0,85. Não se verificou efeito de dieta na produção de calor dos jabutis ($P>0,05$). Efeito de sexo, independente da dieta, foi verificado na avaliação por animal por dia, sendo a produção de calor de $65,1\pm 7,3$ KJ/dia para fêmeas e de $40,6\pm 6,4$ KJ/dia para machos ($P = 0,032$). No entanto, o efeito de sexo desaparece quando corrigido pelo peso corporal dos indivíduos (Fêmeas: $11,42\pm 1,27$ KJ/Kg/dia; Machos: $8,47\pm 1,48$ KJ/Kg/dia, $P = 0,160$). É de se notar que a produção de calor média verificada nas câmaras de respirometria, de $9,68\pm 1,04$ KJ/Kg/dia foi menor do que o valor médio obtido pelo método da água duplamente marcada, de $22,83\pm 2,29$ KJ/Kg/dia ($P<0,01$). Em relação ao consumo de energia digestível, observado no recinto ao longo do período experimental (Tabela 9), este teve valor médio de $24,4\pm 1,05$ kJ/kg/dia, muito próximo ao encontrado com a água duplamente marcada. Observa-se, assim, que os dados nas câmaras de respirometria correspondem a aproximadamente 36% dos estimados nos recintos, de modo que a falta de atividade muscular voluntária e de sua influência no gasto energético fez com que os valores das câmaras se afastassem do necessário para um jabuti em condições normais de manutenção.

Os fatores descritos na literatura para obtenção do gasto energético diário de répteis comparados com a equação modificada de Brouwer (1965), demonstraram valores semelhantes ($P>0,05$) de gasto energético ao se utilizar os valores de VO_2 , VCO_2 ou ainda ambos.

Tabela 19. Determinação do gasto energético usando coeficientes que consideram o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono (Média \pm Erro Padrão da Média).

Parâmetros	Gasto Energético Diário	
	KJ/dia	KJ/kg/dia
Fator de Withers (1992) ¹	$48,7\pm 5,3$	$9,3\pm 1,0$
Fator de Nagy and Medica (1986) ²	$49,9\pm 5,9$	$9,4\pm 1,0$
Equação de Brouwer (1965) ³	$50,7\pm 5,5$	$9,7\pm 1,0$
P valor	0,951	0,953

¹ Cálculo considerando o fator 20,1 J/ml O_2 consumido.

² Cálculo considerando o fator 21,7 J/ml CO_2 produzido.

³ Cálculo considerando a equação modificada de Brouwer (1965) considerando VCO_2 e VO_2 .

6. DISCUSSÃO

A espécie *Chelonoidis carbonaria* ainda apresenta diversas lacunas quanto aos aspectos fisiológicos e nutricionais. Para Testudines a maior parte dos estudos estão concentradas em espécies de deserto com comportamento e metabolismo possivelmente distintos. No presente estudo a contribuição mais importante está em demonstrar o baixo aproveitamento da gordura com sua eliminação nas fezes. Para esta espécie, o ajuste metabólico à ingestão de amido foi bem desenvolvido não demonstrando alterações significativas na saúde dos animais sob longo período de ingestão.

Para jabutis, não há estudos completos sobre a digestão e aproveitamento dos nutrientes da dieta, estes se restringem à avaliação da matéria seca, matéria orgânica, frações da fibra e energia bruta. No presente estudo, a digestibilidade da matéria seca e orgânica foi maior nos animais ingerindo a ração Amido seguida pela Gordura, possivelmente devido ao aproveitamento quase total do amido e pelo efeito inversamente proporcional da fibra na digestibilidade. O efeito negativo na eficiência digestiva de jabutis ingerindo dietas com elevados teores de fibra já foi descrito em algumas espécies (Bjorndal, 1989; Barboza, 1995; Liesegang et al., 2001; Hatt et al., 2005). Este achado também é condizente com os valores encontrados para alguns mamíferos herbívoros monogástricos fermentadores (Hatt et al., 2005) e também descritos por Barboza (1995) para Jabutis do Deserto (*Gopherus agassizii*) alimentados com dietas com baixos e elevados teores de fibra, sendo a digestibilidade da matéria seca de $76\pm 2\%$ e $53\pm 2\%$, respectivamente.

A presença de amilase pancreática, que é responsável pela digestão do amido já foi descrita em répteis (Abrahamson e Maher, 1967) o que justifica a elevada digestibilidade (acima de 99%) pelos jabutis independente da ração. O maior grau de cozimento das rações experimentais com valores acima de 88% de gelatinização do amido também favoreceu esta eficiência digestiva, facilitando a digestão desse material. O melhor aproveitamento do amido nas rações Controle e Amido em detrimento a dieta Gordura possivelmente, está associada a formação de complexos

amilo-lipídicos durante o processo de extrusão tornando o amido indisponível à digestão além do efeito da gordura no bolo fecal dificultando a digestão.

Um achado inesperado foi o baixo aproveitamento da gordura pelos jabutis. Ao reduzir o teor de gordura da ração em aproximadamente pela metade, a digestibilidade da gordura aumentou proporcionalmente (53% e 56% para as dietas Controle e Amido, respectivamente). Esses valores são similares ao encontrado em elefantes e rinocerontes, animais herbívoros monogástricos fermentadores intestinais (Cork et al., 1983; Clauss et al., 2006; Koirala et al., 2019). Em coelhos, dependendo da fonte de gordura e sua inclusão na dieta há uma interferência na digestibilidade do extrato etéreo, sendo que a inclusão na dieta de valores maiores que 6% reduzem a digestibilidade do extrato etéreo devido a diminuição na eficiência digestiva e o efeito negativo na microbiota intestinal (Xiccato, 2010).

Em diversas espécies de mamíferos herbívoros fermentadores intestinais inclusive nos jabutis, a ingestão de gordura em vida-livre é em torno de 2,0 a 3,0%, o que pode explicar uma reduzida capacidade de aproveitamento deste nutriente (McCullagh, 1969; Thompson, 2006). Conforme avaliado por Kritchevsky e Story (1974), a fibra presente na alfafa, palha de trigo, polpa de cana de açúcar e de beterraba, farelo e casca de aveia apresentou elevada capacidade de adsorção aos ácidos e sais biliares interferindo diretamente na digestão da gordura. A relação da lignina, e compostos criados a partir desta, na adsorção de sais e ácidos biliares vem sendo bem descrita em diversos estudos, especialmente com humanos, sobre o seu possível uso inclusive na redução da colesterolemia (Khorasani et al., 2021). Em associação, é possível que a presença de fibras insolúveis nos ingredientes fibrosos utilizados nas rações experimentais promova redução no aproveitamento da gordura por interferir na sua digestão.

Somada a restrita capacidade de absorção e os efeitos dos componentes da dieta na digestão, possivelmente a reduzida ingestão de matéria seca associada a elevada carga microbiana presente em intestino grosso, acentuam as perdas de lipídeos de origem bacteriana (Richard et al., 2017) reduzindo a digestibilidade aparente do extrato etéreo. Sabe-se que répteis herbívoros apresentam baixa capacidade de metabolização de gorduras saturadas com consequentes alterações

na sanidade do animal (Thompson, 2006), mas estudos mais aprofundados ainda são necessários para compreensão dos fatores envolvidos na digestão da gordura.

Em jacarés, a elevada ingestão de gordura promoveu redução no tempo de trânsito gastrointestinal, o que sugere um aumento na motilidade intestinal para esses animais (Borges et al., 2016). No presente estudo, não houve efeito da ingestão de fibra, amido ou gordura sobre a motilidade intestinal, sendo que para jabutis-piranga o tempo de trânsito gastrointestinal foi de $4,5 \pm 0,6$ dias e o tempo de retenção foi de $12,4 \pm 1,5$ dias. Houve apenas uma tendência a maior tempo de trânsito gastrointestinal ao ingerir a dieta Controle com elevado teor de fibra ($6,2 \pm 1,1$ dias) quando comparado as demais dietas ($3,6 \pm 0,4$ dias). A elevada flexibilidade alimentar em jabutis é acompanhada por adaptações anatômicas e fisiológicas para atender as demandas nutricionais desses animais. O consumo e o tipo de alimento estão correlacionados ao tempo de trânsito e a eficiência digestiva, dessa forma, maior consumo está associado a menor tempo de trânsito e menor digestibilidade dos nutrientes (Bjorndal, 1989).

Os valores de tempo de trânsito do presente estudo são condizentes ao encontrado para a espécie consumindo dietas a base de frutas, sendo citados $6,6 \pm 1,2$ dias (Bjorndal, 1989) e 0 a 4 dias (Strong e Fragoso, 2006), porém abaixo do encontrado ao ingerir alimentos com maiores teores de fibra, especialmente lignina ($9,5 \pm 1,7$ dias, Bjorndal, 1989). Essas variações podem ocorrer devido a temperatura ambiental durante os ensaios (Sadeghayobi et al., 2011), mas também por diferenças na ingestão das dietas. Assim como nos demais jabutis herbívoros, jabutis-piranga que se alimentam de dietas com elevado conteúdo fibroso costumam demandar maior tempo no trato gastrointestinal para digestão e aproveitamento dos nutrientes (Bjorndal, 1987, 1989; Barboza, 1995; Tracy et al., 2006). Porém a maior ingestão alimentar associada com maior volume fecal produzido a partir deste conteúdo possivelmente estimula o peristaltismo reduzindo o tempo total que a digesta fica retida no trato gastrointestinal até ser completamente eliminada nas fezes (Meienberger et al., 1993).

Não podemos descartar também que tanto a avaliação do tempo de trânsito gastrointestinal quanto o ensaio para a determinação do coeficiente de digestibilidade aparente, compreenderam o período do inverno, com temperaturas consideradas

abaixo da zona de conforto térmico para a espécie, o que influencia negativamente nestes parâmetros como já demonstrado para outros répteis (Harlow et al., 1976; Sadeghayobi et al., 2011). A adequada temperatura ambiental é fundamental para a secreção e atividade enzimática ao longo do trato gastrointestinal, com extremos na temperatura associados a putrefação da digesta (McArthur, Meyer e Innis, 2004). Apesar da influência da temperatura, os valores de digestibilidade da matéria seca dos jabutis-piranga, independente da ração, encontram-se dentro do observado para diversas espécies de jabutis (Franz et al., 2011), porém o tempo de trânsito gastrointestinal foi menor do que encontrado para espécie sob temperatura ambiental semelhante (Pizzutto et al., 2001).

A maior produção fecal ao ingerir a dieta com maior teor de fibra (Controle) foi acompanhada por fezes com aspecto mais bem formado e escore fecal maior, com piora na aparência das fezes com a ingestão de elevados teores de gordura. O escore fecal não foi acompanhado pelo teor de umidade, indicando modificação no aspecto fecal proporcionado pela eliminação quase que completa da gordura ingerida no bolo fecal. A aparência das fezes é um fator importante a ser considerado durante a produção de alimentos comerciais para animais mantidos como pet, pois pode acarretar rejeição ao fornecimento do alimento pelo tutor, mesmo quando não há prejuízo à saúde do animal.

Em jabutis-piranga, a fermentação ocorre majoritariamente no ceco e em menor proporção no cólon (Bjorndal, 1997) sendo fundamental no aproveitamento da dieta, que é predominante em conteúdos vegetais, além de fornecer de 24 a 65% da energia digestível ingerida (Barboza, 1995). Assim como verificado em outras espécies, no presente estudo, a ingestão das rações experimentais teve como principais produtos de fermentação microbiana intestinal os ácidos graxos voláteis (Owens, 2016), sendo predominante a produção de ácido acético, propiônico e butírico em ordem decrescente (Barboza, 1995; Bjorndal, 1997). Apesar de todas as modificações citadas na digestibilidade, tempo de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal e aspectos de qualidade fecal, as dietas do presente estudo não modificaram os produtos de fermentação intestinal microbiana, apresentando valores similares entre os grupos.

A ração Amido apresentou maior teor desse nutriente em sua composição com gelatinização em torno de 88% (12% e 7% mais baixos em relação as dietas Controle e Gordura, respectivamente), o que indica que parte deste nutriente pode estar em forma de amido resistente com estrutura atuando como um probiótico e sendo fermentada pela microbiota intestinal. A ingestão de elevadas quantidade de amido resistente em cães promove um aumento na fermentação com elevação de 36% na formação de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente butirato (Peixoto et al., 2018). Em répteis, estudos dessa ordem não são observados, mas acredita-se que o mecanismo fisiológico seja semelhante considerando que os clusters de microrganismos presentes sejam em sua maioria similares aos dos demais répteis herbívoros e mamíferos, variando apenas quanto a abundância dos filos (Yuan et al., 2015; García-De La Peña et al., 2019).

As concentrações de ácidos graxos voláteis encontrados para jabutis-piranga estão abaixo do observado em mamíferos fermentadores intestinais *hindgut* e *foregut* (160 a 1156 $\mu\text{Mol/g}$ matéria seca) e no conteúdo rumenal de ungulados (876 $\mu\text{Mol/g}$ matéria seca), mas dentro do valor observado de ácidos graxos de cadeia curta para a espécie (AGCC: 91 $\mu\text{Mol/mL}$) (Troyer, 1984; Bjorndal, 1997). A reduzida concentração de ácidos graxos voláteis nas fezes, observadas independente da dieta ingerida, quando comparada aos demais animais fermentadores intestinais, demonstra a absorção deste e sua utilização como recurso energético, que é seguida pelo pH fecal próximo a neutralidade, variando de 6,2 para Tartaruga verde (*Chelonia mydas*) a 7,2 em Tartaruga-de-barriga-vermelha-da-Flórida (*Pseudemys nelsoni*) (Bjorndal, 1979, 1997; Bjorndal e Bolten, 1990). Possivelmente, se avaliados os valores de AGCC no ceco dos jabutis haveria efeito do amido na fermentação, com redução no acetato, como já observado em coelhos (Gidenne e Bellier, 2000).

Assim como para aves e mamíferos, em répteis, a percepção do alimento está associada a fatores comportamentais, genéticos, fisiológicos e anatômicos (Provenza, 1995), especialmente vinculados ao tipo de dieta ao longo da sua evolução (Beauchamp e Jiang, 2015). Estudos sobre o paladar e papilas gustativas de répteis ainda são escassos e geralmente abordam alguns aspectos em lagartos e cobras, especialmente aqueles ligados ao órgão vomeronasal (Rowland et al., 2015). Em quelônios, o sistema olfativo e visual é bem desenvolvido e possivelmente sejam

parâmetros com grande influência na avaliação do teste de preferência juntamente com o paladar (Frye, 1995). As dietas utilizadas foram recobertas principalmente com gordura de vísceras de frango variando quando a sua inclusão conforme objetivo da ração, o que pode ter proporcionado diferentes intensidades de odores especialmente ao comparar a dieta Gordura com a Controle, a qual possui alta participação de ingredientes fibrosos e baixa gordura de recobrimento.

As dietas experimentais também apresentaram a mesma coloração descartando a influência deste fator no teste, uma vez que colorações amareladas e vermelhas são preferidas por jabutis (Frye, 1995; Passos et al., 2014). As características sensoriais das rações como a dureza do *kibble*, por sua vez, não foram avaliadas podendo ser um aspecto relevante na preferência do animal, considerando a anatomia e fisiologia de apreensão do alimento. Em jabutis, a manipulação do alimento é baixa e a captura é feita com auxílio da língua, que é fixa, juntamente com as placas córneas em mandíbula e maxila (Bjorndal, 1997; Fritz et al., 2010), dessa forma, alimentos rígidos podem proporcionar experiência negativa durante a ingestão.

Muitos animais herbívoros também costumam forragear diversos itens alimentares no intuito de obter os nutrientes necessários à sua manutenção, influenciados por aspectos alimentares morfológicos, além de características químicas e físicas (Knapp e Alvarez-Clare, 2016). No presente estudo, a preferência por alimentos com elevados teores de amido ou gordura foi mantida entre os testes feitos individualmente e coletivamente, no final do período de verão e inverno, respectivamente. Ambos os alimentos apresentaram maior teor de energia digestível quando comparado à dieta Controle, possivelmente sendo escolhas mais energéticas e palatável. A preferência por alimentos com maiores teores de proteína já foram descritos em jabutis *Gopherus*, tartarugas e anfíbios (Jennings e Berry, 2015; Ramamonjisoa et al., 2017), mas não há referências sobre o efeito da gordura e amido sobre este parâmetro em répteis.

O consumo de ração e de energia digestível foi semelhante entre os grupos experimentais, resposta distinta à esperada. Assim como ocorre em aves, esperava-se que a absorção de gordura fosse próxima à 100% (Veloso et al., 2014; Di Santo et al., 2019) contribuindo com aumento na densidade calórica da ração o que limitaria a sua ingestão. Dentro deste raciocínio tanto a ingestão da dieta Gordura quanto Amido

seriam menores a dieta Controle. Como a digestibilidade da gordura foi baixa, sendo eliminada nas fezes, a energia digestível da dieta Gordura foi similar às demais dietas, já na dieta Amido o teor energético é maior sendo acompanhado por menor ingestão de matéria seca e similar consumo de energia digestível.

O consumo de energia digestível semelhante entre os grupos experimentais explica o mesmo ganho de peso corporal entre as dietas. O consumo de matéria seca encontrado no presente estudo encontra-se dentro dos valores observados para jabutis-piranga consumindo folhagens de *Lantana* ($2,1 \pm 0,8$ g MS/Kg PC/dia) (Bjorndal, 1989) mas abaixo do que é encontrado em outras espécies de jabutis herbívoros (Barboza, 1995; Halley, 1997; Hatt et al., 2005).

Independente da ração experimental, os jabutis ganharam peso ao longo do período experimental e apesar de não haver diferença estatística os animais cresceram nesse período. Há um efeito de sexo na mensurações morfológicas do casco de jabutis-piranga, marcando o dimorfismo sexual nessa espécie como também já determinado para jabutis da espécie *Testudo graeca*, com fêmeas mais pesadas, compridas e largas que os machos (Mahmoud, 2015; Tomović et al., 2020). A densidade corporal ou índice de condição corporal (g/cm^3) dos jabutis adultos do presente estudo está dentro dos valores encontrados para *Gopherus agassizii*, *Actinemys marmorata* e *Homopus signatus signatus* em diferentes condições de alojamento e vida-livre (Loehr et al., 2007; Ashton et al., 2015; Daly et al., 2018) e demonstram a manutenção da condição corporal dos animais ao longo do estudo.

A manutenção da condição corporal e a ingestão de dieta balanceada foi acompanhada por hemograma dentro da referência para a espécie após a ingestão das rações experimentais. Houve efeito de sexo e período para a maioria dos parâmetros, achado condizente ao descrito em diversas espécies de quelônios, especialmente em hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem total de hemácias com maiores valores nos machos quando comparados às fêmeas (Andreani et al., 2014; Christopher et al., 1999; Hofmeyr et al., 2017). Assim como o verificado em mamíferos, esse efeito de sexo pode ser decorrente da ação de hormônios andrógenos na medula e estimulando a produção de eritropoietina (Murphy, 2014).

As coletas realizadas no inverno com temperaturas em torno de 6 a 22°C, promoveram redução tanto no eritrograma quanto no leucograma, mantendo a

proporção celular na contagem diferencial de leucócitos (Bergamini et al., 2017), o que corrobora com o verificado no presente estudo. Estes achados reiteram as modificações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos conforme a estação do ano e temperatura ambiental verificadas em répteis (Dickinson et al., 2002; Bergamini et al., 2017; Hofmeyr et al., 2017).

Assim como para o hemograma, no presente estudo a dieta não interferiu na maioria dos parâmetros bioquímicos avaliados, verificando-se efeito de sexo e período de coleta sobre esses parâmetros, resultados também observados em outras espécies de quelônios (Dickinson et al., 2002; Raphael et al., 2010; Scope et al., 2013; Andreani et al., 2014). A glicemia e a albumina foram menores durante o inverno, período em que os jabutis reduzem o nível de atividade e a ingestão de alimento, chegando, em algumas espécies de clima temperado, a entrar em hibernação ou torpor (Christopher et al., 1999; Andreani et al., 2014). A ureia diferiu entre as rações experimentais, sendo mais elevada nos animais ingerindo a dieta Gordura e menor na Amido. As rações foram formuladas para que a contribuição energética advinda das fontes de proteína fosse similar, porém o maior consumo da dieta Gordura fez também com que a ingestão proteica fosse maior o que pode ter influenciado neste parâmetro bioquímico.

Com relação as enzimas que avaliam lesão hepática, ao serem avaliadas em associação com a atividade de creatina quinase, demonstram elevação das concentrações de aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina nos animais ingerindo a dieta Amido e Gordura, porém dentro da faixa de referência. Apesar desse aumento, não é possível afirmar que houve lesão no tecido hepático em decorrência da ingestão de maiores teores de amido e gordura. A avaliação da atividade das transaminases hepáticas não apresentou boa correlação com alterações oriundas de esteatose hepática em jabutis-piranga, sendo essencial a realização de biópsia para o diagnóstico conclusivo das lesões (Dutra, 2014). A CK apresentou elevações em sua concentração na coleta correspondente ao período de inverno, demonstrando a interferência da estação do ano e temperatura ambiental sobre a fisiologia do animal, dificultando a realização da coleta por uma possível vasoconstrição.

As fêmeas apresentaram teores mais elevados no lipidograma, com valores de triglicerídeos chegando a ser quase dez vezes maior quando comparado aos machos,

o que está correlacionado à mobilização lipídica aos ovários para a reprodução, por ação estrogênica (Raphael et al., 2010; Scope et al., 2013). A sazonalidade encontrada no perfil de lipoproteínas de baixa densidade dos jabutis deste estudo é condizente com o observado em répteis e está associada à mudanças no metabolismo energético advindas com as variáveis climáticas ambientais e período reprodutivo (Price, 2017). A concentração de colesterol, triglicérides e lipoproteínas é fundamental na avaliação de dislipidemias e apresenta importante interferência tanto de sexo quanto de sazonalidade sendo fatores importantes a serem considerados na avaliação.

Com relação aos efeitos dos substratos alimentares, apesar de grande parte da gordura advinda da dieta ter sido eliminada pelas fezes, o que foi absorvido da dieta Gordura ainda promoveu elevação do colesterol sérico, com efeito em LDL. O aumento do LDL após a ingestão de dietas ricas em gordura já foi descrito em peixes e está associada a acúmulo lipídico em tecido hepático (Yan et al., 2015), o que provavelmente também ocorre em répteis diante do metabolismo de lipídios. A lipoproteína HDL que é responsável pelo transporte reverso do colesterol presente nos tecidos para o fígado, também é influenciada pelo sexo e no presente estudo apresentou uma correlação com a ingestão de elevados teores de amido.

A análise mais aprofundada do transporte de colesterol e triglicerídeos dentro das frações de lipoproteínas permite verificar que mais uma vez o sexo é determinante no metabolismo de lipídeos dos jabutis, com forte influência do período reprodutivo sobre os parâmetros. As rações experimentais, contrapondo o que era esperado, não demonstraram efeitos decisivos para o perfil bioquímico e sérico, que em parte pode ser explicada pelo baixo aproveitamento da gordura da dieta. A VLDL carreadora de colesterol foi predominante nas fêmeas ingerindo a ração Gordura, o que possivelmente está correlacionada ao maior aporte de substratos energéticos dessa dieta. Já o oposto é verificado para LDL carreador de triglicérides, sendo que a porcentagem foi maior na dieta Controle.

Comumente a VLDL e os quilomícrons são responsáveis pelo transporte de triglicerídeos oriundos da dieta (Cain et al., 2003), o que justifica a sua maior concentração em dietas com teores mais elevados de substratos energéticos, como a gordura e o amido. Sob dietas com elevados teores de gordura, Tartarugas-de-ouvido-

vermelho (*Trachemys scripta*), parecem absorver os lipídeos observando-se maiores teores de LDL e IDL, além de apresentarem estruturas similares a encontrada em humanos (Cain et al., 2003). Em répteis, especialmente nos quelônios, há lacunas sobre o transporte de triglicerídeos necessários na vitelogênese, mas sugere-se que possa haver uma participação da VLDL além das VLDLs específicas deste processo (Price, 2017), o que justificaria o aumento dessa lipoproteína nas fêmeas.

A composição das lipoproteínas de jabutis seguiu a distribuição de triglicerídeos e colesterol verificadas em humanos (Chapman, 1980) inclusive apresentando semelhanças em algumas apoproteínas analisadas (Cain et al., 2003). Apesar dessa similaridade não há estudos em répteis explorando o metabolismo de lipídeos e a participação das lipoproteínas em aterogenicidade ou ainda sob as diversas alterações em tecido hepático.

A avaliação histológica do tecido hepático dos jabutis demonstrou a presença de esteatose em diferentes graus que foi acompanhada por inflamação em alguns casos. Alterações hepáticas são achados comuns em répteis com descrição de degeneração vacuolar, atrofia, hemossiderose e deposição acentuada de melanina em Jabutis do Deserto de vida-livre (Homer et al., 1998), alterações condizentes ao encontrado já no início do experimento. À avaliação histológica houve melhora na degeneração microvesicular após a ingestão das dietas experimentais, em particular na dieta Controle, demonstrando possível efeito benéfico dos carboidratos insolúveis da dieta sob o metabolismo lipídico. A presença em todas as dietas experimentais, em níveis adequados, de nutrientes importantes ao metabolismo lipídico hepático, como colina e metionina (Mato et al., 2008; Park et al., 2011), pode ser fator chave na semelhante resposta do fígado aos diferentes substratos encontrados no estudo.

Para a hemossiderose, embora haja apenas efeito estatístico na dieta Gordura entre os períodos, é possível verificar que houve aumento no escore de lesão ao período final. Em seres humanos e ratos, já foi demonstrado correlação entre esteatose e o acúmulo de ferro por estímulos inflamatórios ou de adipocinas sob os níveis de hepcidina, a qual regula o metabolismo de ferro (Feldman et al. 2015). Apesar de não estabelecido os valores de referência dos requerimentos de ferro para jabutis, é possível inferir que, para herbívoros, o maior consumo de alimentos ricos neste mineral eleve a sua tolerância a níveis mais elevados. Em contraposição, a dieta

Gordura que apresentou efeito de período na hemossiderose possui valores estimados de ferro em sua composição inferiores às demais dietas (195 mg/kg ração versus 270 mg/kg e 176 mg/kg ração para as dietas Controle e Amido, respectivamente). Possível efeito da composição de massa gorda sob a liberação de adipocinas e consequente ação na hepcidina não foi verificada no estudo indicando possíveis alterações no metabolismo de ferro ainda não elucidadas.

Paralelamente, a presença de maior pigmentação por lipofucsina ao período final especialmente nas dietas Controle e Gordura, em associação à hemossiderose são indicativos da ocorrência de estresse oxidativo com danos à membrana celular. A presença de ferro e a formação de peróxidos a partir de reações metabólicas como a respiração celular se unem formando radicais extremamente reativos que darão origem a lipofucsina (Terman e Brunk, 2004). Essas alterações podem estar associadas ao aumento no número de melanomacrófagos com sua ação fagocitária e de defesa à processos potencialmente lesivos aos hepatócitos. Os melanomacrófagos possuem capacidade de síntese de melanina e contém lipofucsina e hemossiderina em seu interior, que sugerem ação antioxidante da melanina sob radicais livres especialmente aqueles contendo ferro (Henninger e Beresford, 1990; Christiansen et al., 1996; Agius e Roberts, 2003).

Também podemos destacar um possível efeito da cronicidade das lesões esteatóticas sob a membrana dos hepatócitos, mas sem descartar a possibilidade do componente oxidativo persistente na evolução e ocorrência de fibrose verificada ao longo do experimento. Em cágados da espécie *Pelodiscus sinensis*, o consumo dietas ricas em gordura (13,89% de lipídeos) foi capaz de induzir dislipidemias com lesões em tecido hepático, aumento de espécies reativas de oxigênio e estresse oxidativo, bem como a diminuição da capacidade antioxidante e aumento na autofagia hepática (Zhong et al. 2020). Efeitos esses, similares encontrados em peixes carnívoros porém, ao consumir dietas com mais de 20% de amido em sua composição (Lin et al. 2018). Dessa forma, a ampliação do estudo avaliando marcadores de estresse oxidativo nos jabutis seria capaz de elucidar pontos importantes relativos às alterações histológicas verificadas e a metabolização dos substratos da dieta para animais herbívoros.

O maior teor de gordura e amido na dieta não representou modificações na composição corporal dos jabutis, o que pode ser justificado pela eliminação da gordura

nas fezes e seu baixo aproveitamento bem como a adaptação dos jabutis a ingestão de alimentos com elevados teores de amido. A manutenção da composição corporal foi acompanhada pelo peso corporal com influência do sexo sobre as porcentagens de massa magra e conteúdo mineral além da densidade mineral óssea. Para jabutis, as fêmeas apresentaram maior massa magra avaliada através de densitometria, que pode estar correlacionada ao dimorfismo sexual com maior desenvolvimento de casco além destas serem mais pesadas (Bonnet et al., 2001; Tomović et al., 2020). Estas também possuem menor densidade óssea e conteúdo mineral em comparação aos machos que possivelmente está correlacionada ao processo de oviposição com maior demanda de minerais para a formação do ovo, como já verificado em outros répteis (Edgren, 1960; De Buffrénil e Francillon-Vieillot, 2001).

A avaliação da composição corporal pelo DEXA para jabutis parece ser confiável com exceção dos valores obtidos para massa de gordura devido a elevada porcentagem de material mineral que altera a densidade dos tecidos e prejudica a análise (Stone et al., 2010; Stone e Turner, 2012), o que também podemos visibilizar neste estudo quando comparada à metodologia da água duplamente marcada (DLW). Avaliando ambas as metodologias, em macacos, há uma boa correlação porém a determinação da gordura corporal é subestimada em 7,5%, sendo a avaliação da composição corporal mais precisa pela diluição isotópica (Blanc et al., 2005). A validação do DEXA, em quelônios, demonstrou que há uma boa correlação do conteúdo mineral ósseo, densidade mineral óssea e massa magra entre os animais avaliados anestesiados com a composição química analisada após eutanásia, mas foi superior a 53,7% na determinação da massa gorda (Stone et al., 2010).

No presente estudo, a avaliação utilizando a DLW parece ser mais precisa para a determinação da gordura e a composição corporal considerando o peso não teve interferência de sexo. Dessa forma, para jabutis-piranga a massa magra vai de 82 a 87% dependendo da metodologia utilizada, valores condizentes ao encontrado por Stone et al. (2010) para *Trachemys scripta*. A composição de gordura dos jabutis avaliada através da DLW foi superior ao valor encontrado para cobras ($12,4 \pm 0,9\%$) com um erro analítico do DEXA de 16% (Secor e Nagy, 2003).

Para ectotérmicos, a temperatura corporal e sazonalidade são determinantes na taxa metabólica modulando toda a resposta energética e comportamental do

animal (Lagarde et al., 2003; Berg et al., 2017; Goessling et al., 2018; Terespolsky e Brereton, 2021). Por exemplo, foi descrito que o gasto energético em vida-livre de *Gopherus agassizii* varia de 3,3 a 36,6 KJ/kg/dia no inverno e verão, respectivamente (Henen, 1997a). Aumento de 10°C (de 20°C para 30°C) promove elevação de aproximadamente 80% no consumo de oxigênio em Mud Turtle (*Kinosternon subrubrum*) evidenciando a importância do controle deste parâmetro. Sob elevadas temperaturas a demanda de oxigênio é maior e está correlacionada a manutenção ciclo circadiano na taxa metabólica (Kirsch e Vivien-Roels, 1984) na avaliação e comparação do gasto energético (Litzgus e Hopkins, 2003).

Para evitar esse efeito, no presente estudo a temperatura nas câmaras de respirometria foi semelhante entre tratamentos e o valor médio estabelecido encontra-se dentro da zona de conforto térmico (25 a 29°C) para a espécie (Mcarthur e Barrows, 2004b). Já no ensaio utilizando a água duplamente marcada, a temperatura ambiental não foi controlada e seguiu as oscilações diárias do ambiente, sendo mais baixa no período final ($22,1 \pm 1,5^\circ\text{C}$). Essa diferença de temperatura entre os períodos de coleta pode ter influenciado a produção de CO₂, com redução de 42% nos valores encontrados no período final, o que interferiu no gasto energético diário.

Ao considerar o peso corporal, é possível verificar que houve efeito de sexo no VCO₂, com os machos demandando mais energia, o que não foi verificado utilizando as câmaras de respirometria. Esse efeito de sexo pode ser decorrente do maior nível de atividade dos macho no recinto, considerando que no período de avaliação ainda havia um efeito residual do período reprodutivo no qual os machos são mais ativos (Moskovits e Kiester, 1987).

O gasto energético não foi alterado com o consumo das rações o que é acompanhado pela manutenção da composição corporal dos animais uma vez que, o tecido adiposo apresenta baixa atividade metabólica quando comparado à musculatura, dessa forma, animais obesos tendem a apresentar menor demanda energética que animais com o escore corporal adequado (Backus e Wara, 2016). O efeito principal do gasto energético, determinado pela DLW, no presente estudo provavelmente advém da atividade muscular e da influência da temperatura sobre o comportamento e metabolismo. A atividade muscular em tartarugas é responsável por um aumento no metabolismo na ordem de 9 a 10 vezes o valor do repouso (Jackson

e Prange, 1979). No presente estudo, os animais que foram mantidos nos recintos apresentaram um aumento de 2,5 vezes no gasto energético diário quando comparado ao valor mensurado nas câmaras de respirometria com o animal em inatividade. Sob condições ambientais e possibilidade de realização de atividade, os jabutis-piranga apresentaram gasto energético inferior ao encontrado para jabutis *Gopherus polyphemus*, *Testudo gigantea* e *Testudo hermanni* (Hughes et al. 1971; Jodice et al. 2006).

A diferença nos valores de gasto energético encontrados no estudo, comparando DLW e calorimetria indireta, também podem ser decorrentes do estado alimentar do animal. Este irá afetar diretamente o VO_2 , podendo ser superior em 52% em tartarugas alimentadas quando comparado ao jejum, conforme demonstrado por Jones et al. (2009). Com a metodologia DLW os jabutis possivelmente mantiveram sua atividade e a ingestão calórica, sem a interferência da contenção e restrição de espaço o que permitiu a determinação de valores de gasto energético próximas as condições reais. Dessa forma, para jabutis-piranga adultos, a ingestão de energia digestível observada durante todo o período experimental foi de aproximadamente 24,4 KJ/kg/dia condizente com o encontrado com a DLW (26,45±1,75 KJ/kg/dia).

O VO_2 e o VCO_2 , avaliados por calorimetria indireta, foram semelhantes entre as rações experimentais, sem efeito detectável de sua composição química. Deve-se considerar, no entanto, que a avaliação se restringiu a um período de 12h, sendo possível, assim, que avaliação mais prolongada pudesse identificar alguma diferença de incremento calórico entre os diferentes substratos. Em jabutis da espécie *Kinixys spekii* o pico do incremento calórico foi observado 24 horas após ingestão alimentar, mesmo sendo este ainda correspondente a fase estomacal da digestão (Hailey, 1998). Este é um indicativo que o período de coleta da respirometria pode ter abrangido, então, apenas o início do incremento calórico, demonstrando valores próximos ao encontrado na taxa metabólica de repouso e jejum em diversas espécies (Ultsch, 2013; De Oliveira, 2018).

O consumo médio de oxigênio observado no presente estudo foi superior (21,68±3,16 mL//kg/dia) ao encontrado por de-Oliveira (2018) e Baú (2016) para a mesma espécie em um estudo de fisiologia respiratória a 25°C, porém com os animais em jejum de 5 a 7 dias (VO_2 de 13,8±5,4 mL//kg/dia e 10,8±1,8 mL//kg/dia para jabutis-

piranga, respectivamente). Esses dados reiteram que nossos dados refletem um estado alimentado em início de incremento calórico, portanto, os valores observados na respirometria são mais próximos ao indicado pela taxa metabólica de repouso e jejum.

O quociente respiratório considera a razão entre os volumes de dióxido de carbono produzido e de oxigênio consumido, indicando os substratos (carboidratos, proteínas e/ou lipídeos) que estão sendo catabolizados aerobiamente pelo organismo na obtenção de energia (Lighton, 2008). O valor médio de 0,84 encontrado no presente estudo situa-se no intervalo entre o catabolismo de lipídeos e carboidratos (próximos à 0,7 e 1,0, respectivamente). Como as rações são compostas por mistura de diferentes substratos, os valores podem ser mesmo variáveis, mas sempre dentro do intervalo acima. A falta de efeito da ração gordura no coeficiente respiratório, que deveria ter sido mais baixo que o da ração amido, talvez possa ser explicado pelo menor consumo de alimentos neste tratamento, que foi apenas metade do que o verificado na ração amido apesar dos resultados serem estatisticamente similares. Além disso, em ensaio de digestibilidade foi verificado que os jabutis-piranga tem baixa digestibilidade aparente da gordura, com absorção aparente de apenas 34% do extrato etéreo da ração gordura. Assim, o menor consumo e a maior excreção nas fezes podem ter removido o efeito da dieta no coeficiente respiratório.

O fluxo de água foi constante ao longo do experimento e não teve interferência da dieta ingerida bem como do sexo. O influxo de água de jabutis-piranga foi pelo menos 76% maior do que encontrado para Jabutis do Deserto, *Gopherus agassizii* (Henen et al., 1998) e duas vezes os valores encontrados para lagartos de deserto (Nagy et al., 1991). Essa diferença se deve as adaptações fisiológicas apresentadas por espécies de deserto, como a *Gopherus*, em reabsorver grandes volumes de água presente na bexiga urinária e aumentar a osmolaridade plasmática e urinária, contornando perdas hídricas correspondente a 60% de sua massa corporal (Peterson, 1996).

Para as nossas espécies tropicais, a pressão de disponibilidade hídrica não é marcante, especialmente sobre as condições em que os animais foram mantidos no cativeiro com fornecimento de água *ad libitum*, e dessa forma, o fluxo de água corporal pode ser constante durante todas as avaliações. Em lagartos *Tupinambis teguxin*, o

fluxo de água vai de 59,6 a 35,6 mL/kg/dia para estações chuvosas e secas, respectivamente, demonstrando esse efeito da adaptação as condições ambientais. Ainda nesse sentido Nagy (1982), propõe duas equações alométricas distintas para a determinação do influxo de água, uma para répteis que habitam regiões áridas e semiáridas ($20,5 \text{ kg}^{0,91}$, ml/dia) e outra para répteis tropicais ($45,0 \text{ kg}^{0,66}$, mL/dia), reiterando as diferenças no fluxo hídrico com as modificações do ambiente.

7. CONCLUSÕES

Jabutis-piranga demonstraram digestibilidade aparente limitada da gordura, que se reduziu com o aumento da ingestão do nutriente na dieta, resposta oposta à verificada em mamíferos e aves. Também, a concentração de produtos de fermentação nas fezes não se alterou com a dieta, o que pode ser devido à extensa absorção destes compostos em função do peristaltismo reverso. O aumento de gordura e amido nas dietas não interferiu no metabolismo energético, composição corporal, fluxo de água ou ingestão de calorías. Houve aumento de albumina, ureia, colesterol e LDL nos animais alimentados com a dieta Gordura. Diferenças entre sexos nos parâmetros bioquímicos séricos foram evidentes, com menor glicemia, AST, proteínas totais, colesterol, triglicérides e HDL e maior FA, albumina e LDL nas fêmeas do que nos machos. Em relação à composição corporal, fêmeas apresentaram menor densidade mineral óssea e conteúdo mineral ósseo que machos. Ao exame histopatológico, houve redução na degeneração microvesicular de hepatócidos após o consumo da dieta Controle, mas também foram verificadas alterações sugestivas de estresse oxidativo, principalmente nos animais que receberam a dieta Gordura, que justificam maiores investigações a respeito dos efeitos de tais dieta no metabolismo e saúde hepática. Os jabutis demonstraram reduzida taxa metabólica, com gasto energético diário de $26,5 \pm 1,8$ kJ/kg/dia.

8. REFERÊNCIAS

- Abrahamson Y, Maher M (1967) The effects of temperature upon pancreatic amylase in selected reptiles and an amphibian. **Canadian Journal of Zoology** 45:227–232. <https://doi.org/10.1139/z67-029>
- Acquarone M, Born EW, Speakman JR (2006) Field Metabolic Rates of Walrus (*Odobenus rosmarus*) Measured by the Doubly Labeled Water Method. **Aquatic Mammals** 32:363–369. <https://doi.org/10.1578/AM.32.3.2006.363>
- Agius C, Roberts RJ (2003) Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases** 26:499–509. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x>
- Almeida CG (2011) **Crescimento e digestibilidade de dietas com diferentes teores de fibra para a Tartaruga-da-Amazônia – Podocnemis expansa**. 93 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Almosny NRP, Monteiro AO (2007) Patologia Clínica. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JI (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens Medicina Veterinária**, 1st. São Paulo: Roca, p 939–966.
- Andrade D V, Cruz-Neto AP, Abe AS, Wang T (2005) Specific dynamic action in ectothermic vertebrates: a review of the determinants of postprandial metabolic response in fishes, amphibians, and reptiles. **Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates** 305-324.
- Andreani G, Carpenè E, Cannavacciuolo A, et al (2014) Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* ssp.). **Veterinary Clinical Pathology** 43(4):573-583. <https://doi.org/10.1111/vcp.12203>
- AOAC: Association of Official Analytical Chemistry (2005) Official Methods of Analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD, USA. 18th ed.
- Araújo J, Pereira R, Palha M, Vieira e Rosa P (2015) Lipoproteínas de répteis: estrutura, metabolismo e aspectos comparativos. **PubVet** 9:101-157. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v9n3.101-114>
- Arch JRS, Hislop D, Wang SJY, Speakman JR (2006) Some mathematical and technical issues in the measurement and interpretation of open-circuit indirect calorimetry in small animals. **International Journal of Obesity** 30(9):1322-1331.
- Asadi F, Rostami A, Pourkabar M, Shahriari A (2007) Serum lipid and lipoprotein profile of Asian tortoise (*Agrionemys horsfieldi*) in prehibernation state. **Comparative Clinical Pathology** 16(3):193-195. <https://doi.org/10.1007/s00580-007-0676-0>
- Ashton DT, Bettaso JB, Welsh HH (2015) Changes across a decade in size, growth, and body condition of western pond turtle (*Actinemys marmorata*) populations on free-flowing and regulated forks of the trinity river in northwest California. **Copeia**

103(3):621–633. <https://doi.org/10.1643/CP-15-253>

Aydin R (2005) Type of fatty acids, lipoprotein secretion from liver and fatty liver syndrome in laying hens. **International Journal of Poultry Science** 4(11):917-919. <https://doi.org/10.3923/ijps.2005.917.919>

Backus R, Wara A (2016) Development of Obesity. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice** 46(5):773–784. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.04.002>

Barboza PS (1995) Digesta passage and functional anatomy of the digestive tract in the desert tortoise (*Xerobates agassizii*). **Journal of Comparative Physiology B** 165(3):193-202. <https://doi.org/10.1007/BF00260810>

Battley EH (1995) The advantages and disadvantages of direct and indirect calorimetry. **Thermochimica Acta** 250(2):337-352. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(94\)01963-H](https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)01963-H)

Baú PHT (2016) **Mecânica ventilatória, padrão ventilatório e custo metabólico da ventilação em *Trachemys scripta* e *Chelonoidis carbonarius* (Testudines: Cryptodira)**. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Beauchamp GK, Jiang P (2015) Comparative biology of taste: Insights into mechanism and function. **Flavour** 4:1–3. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-4-9>

Beaufrère H, Gardhouse S, Ammersbach M (2020) Lipoprotein characterization in Quaker parrots (*Myiopsitta monachus*) using gel-permeation high-performance liquid chromatography. **Veterinary Clinical Pathology** 49(3):417-427. <https://doi.org/10.1111/vcp.12895>

Bergamini BC da S, dos Santos EO, Wartchow BS, et al (2017) Hematologic variation values of captive red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria*) in South Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae** 45:1–6. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.79176>

Bergamini BCDS (2016) **Variação sazonal dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*)**. 156 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Unesp, Botucatu.

Bérnils RS, Costa HC (2015) Répteis brasileiros: lista de espécies. **Sociedade Brasileira de Herpetologia** 3:74-84.

Bjorndal KA (1989) Flexibility of digestive responses in two generalist herbivores, the tortoises *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata*. **Oecologia** 78(3):317-321. <https://doi.org/10.1007/BF00379104>

Bjorndal KA (1997) Fermentation in Reptiles and Amphibians. In: Reddy CA, Chakrabarty AM, Demain AL, Tiedje JM (Eds.) **Gastrointestinal Microbiology**. Boston: Springer p. 199-230.

Bjorndal KA (1987) Digestive efficiency in a temperate herbivorous reptile, *Gopherus polyphemus*. **Copeia** 714-720. <https://doi.org/10.2307/1445664>

Bjorndal KA (1979) Cellulose digestion and volatile fatty acid production in the green

turtle, *Chelonia mydas*. **Comparative Biochemistry Physiology -- Part A Physiology** 63(1):127-133. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(79\)90638-8](https://doi.org/10.1016/0300-9629(79)90638-8)

Bjorndal KA, Bolten AB (1990) Digestive processing in a herbivorous freshwater turtle: consequences of small-intestine fermentation. **Physiological Zoology** 63:1232–1247. <https://doi.org/10.1086/physzool.63.6.30152642>

Black AE, Prentice AM, Coward WA (1986) Use of food quotients to predict respiratory quotients for the doubly-labelled water method of measuring energy expenditure. **Human Nutrition. Clinical Nutrition** 40(5):381-391.

Blanc S, Colman R, Kemnitz J, Weindruch R, Baum S, Ramsey J, Schoeller D (2005) Assessment of nutritional status in rhesus monkeys: Comparison of dual-energy X-ray absorptiometry and stable isotope dilution. **Journal of Medical Primatology** 34:130–138. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2005.00106.x>

Bonnet X, Lagarde F, et al (2001) Sexual dimorphism in steppe tortoises (*Testudo horsfieldii*): Influence of the environment and sexual selection on body shape and mobility. **Biological Journal of the Linnean Society** 72:357–372. <https://doi.org/10.1006/bijl.2000.0504>

Borges RM, Pressinotti LN, Aleixo VM, Borges JCS, Bérnago AS, Lunes RS, da Silva RMC (2016) Dietary lipid absorption and lipoprotein secretion by the intestine of the crocodilian *Caiman yacare* (Daudin, 1802). **Zoomorphology** 135:217–231. <https://doi.org/10.1007/s00435-015-0300-9>

Borsook H (1936) The specific dynamic action of protein and amino acids in animals. **Biological Reviews** 11:147–180.

Boyer TH, Scott PW (2019) Nutritional Diseases. In: Divers SJ, Stahl SJ (eds) **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery E-Book**, 3rd edn. Elsevier, pp 932–950

Brown TK, Nagy KA, Morafka DJ (2005) Costs of growth in tortoises. **Journal of Herpetology** 39:19-23 [https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2005\)039\[0019:COGIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2005)039[0019:COGIT]2.0.CO;2)

Brunetto MA, Nogueira S, Sá FC, Peixoto MC, Vasconcellos RS, Ferraudo AJ, Carciofi AC (2011) Correspondência entre obesidade e hiperlipidemia em cães Correspondence. **Ciência Rural** 41(2):266-271.

Burton T, Killen SS, Armstrong JD, Metcalfe NB (2011) What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences? **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 278:3465-3473.

Cain W, Song L, Stephens G, Usher D (2003) Characterization of lipoproteins from the turtle, *Trachemys scripta elegans*, in fasted and fed states. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 134:783–794. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00012-6)

Campbell TW (2015) *Exotic Animal Hematology and Cytology: Fourth Edition*. John Wiley & Sons. 401 p.

Campbell TW (2012) *Clinical Chemistry of Reptiles*. In: Thrall MA, Weiser G, Allison

RW, Campbell TW (Eds.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Iowa: John Wilwy & Sons, p. 599-606.

Carciofi AC., Oliveira LD (2007) Doenças nutricionais. In: Cubas SZ, Silva JCR, Catão-Dias JL (Eds.) **Tratado de Animais Selvagens**, 1st edn. Roca, São Paulo, pp 838–864

Carmel B, Johnson R (2018) Nutritional and Metabolic Diseases. In: Doneley B, Monks D, Johnson R, Carmel B (eds) **Reptile Medicine and Surgery**. Hoboken :John Wiley & Sons Ltd., p. 185–195.

Carter WA, Bauchinger U, McWilliams SR (2019) The importance of isotopic turnover for understanding key aspects of animal ecology and nutrition. **Diversity** 11(5):84.

Castro C, Pérez-Jiménez A, Coutinho F, Dáz-Rosales P, Serra CAR, Panserat S, Corraze G, Peres H, Oliva-Teles A (2015) Dietary carbohydrate and lipid sources affect differently the oxidative status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **British Journal of Nutrition** 114:1584-1593. <https://doi.org/10.1017/S0007114515003360>

Chapman MJ (1980) Animal lipoproteins: Chemistry, structure, and comparative aspects. **Journal of Lipid Research** 21:789–853. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)34780-5](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)34780-5)

Christiansen JL, Grzybowski JM, Kodama RM (1996) Melanomacrophage Aggregations and Their Age Relationships in the Yellow Mud Turtle, *Kinosternon flavescens* (Kinosternidae). **Pigment Cell Research** 9:185–190. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.1996.tb00108.x>

Christopher MM, Berry KH, Wallis IR, Nagy KA, Henen BT, Peterson CC (1999) Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave desert. **Journal of Wildlife Diseases** 35:212–238. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-35.2.212>

Clauss M, Castell JC, Kienzle E, Dierendeld ES, Flach EJ, Behlert O, Ortmann S, Streich WJ, Hummel J, Hatt JM (2006) Digestion coefficients achieved by the black rhinoceros (*Diceros bicornis*), a large browsing hindgut fermenter. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 90:325–334. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2006.00606.x>

Colon V, Gumpenberger M (2020) Diagnosis of hepatic lipidosis in a tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*) by computed tomography. **Journal of Exotic Pet Medicine** 33:18–22. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2020.01.002>

Cork SJ, Hume ID, Dawson TJ (1983) Digestion and metabolism of a natural foliar diet (*Eucalyptus punctata*) by an arboreal marsupial, the koala (*Phascolarctos cinereus*). **Journal of Comparative Physiology** 153:181–190. <https://doi.org/10.1007/BF00689622>

da Silva RSM, Migliortni RH (1990) Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic processes in the turtle (*ITphrynops hilarii*). **Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology** 96(3):415-419. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(90\)90105-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(90)90105-2)

Daly JA, Buhlmann KA, Todd BD, Moore CT, Peaden JM, Tuberville TD (2018) Comparing growth and Body Condition of indoor-reared, outdoor-reared, and direct-released Juvenile Mojave Desert Tortoises. **Herpetological Conservation and Biology** 13:622–633.

de Albuquerque Bonelli M, de Oliveira DC, Costa LAVS, Forattini JG, Rossi Júnior JL, Leite FLG, Costa FS (2013) Quantitative computed tomography of the liver in juvenile green sea turtles (*Chelonia mydas*). **Journal of Zoo Wildlife Medicine** 44:310–314. <https://doi.org/10.1638/2012-0123R1.1>

De Andrade DV, Abe AS (1999) Gas exchange and ventilation during dormancy in the tegu lizard *Tupinambis merianae*. **Journal of Experimental Biology** 202:3677–3685. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.24.3677>

De Buffrénil V, Francillon-Vieillot H (2001) Ontogenetic changes in bone compactness in male and female Nile monitors (*Varanus niloticus*). **Journal of Zoology** 254:539–546. <https://doi.org/10.1017/S0952836901001042>

de Oliveira PRC (2018) **Análise de padrão ventilatório, trocas gasosas e mecânica ventilatória em juvenis e adultos de *Chelonoidis carbonarius* (Spix, 1824)**. 149 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) - USP, Ribeirão Preto.

Di Santo LG, Braos LB, Kawanami AE, et al (2019) Feed processing effects on digestibility, palatability, excreta fermentation products and blood parameters in blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) †. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** (Berl) 103:339–353. <https://doi.org/10.1111/jpn.13011>

Dickinson VM, Jarchow JL, Trueblood MH (2002) Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona. **Journal of Wildlife Diseases** 38:143–153. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-38.1.143>

Divers SJ (2019) Hepatology. In: Divers SJ, Stahl SJ (eds) **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery 3rd edn**. St. Louis: Elsevier, p. 649–668.

Divers SJ (2010) Reptile diagnostic endoscopy and endosurgery. **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice** 13:217-242.

Divers SJ, Cooper JE (2000) Reptile hepatic lipidosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine** 9:153-164. <https://doi.org/10.1053/ax.2000.7136>

Divers SJ, Stahl SJ, Camus A (2010) Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). **Journal of Zoo Wildlife Medicine** 41:677-687. <https://doi.org/10.1638/2010-0080.1>

Donoghue S (1998) Nutrition of pet amphibians and reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine** 7:148-153. [https://doi.org/10.1016/s1055-937x\(98\)80006-6](https://doi.org/10.1016/s1055-937x(98)80006-6)

Donoghue S, McKeown S (1999) Nutrition of captive reptiles. **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice** 2:69-91. [https://doi.org/10.1016/S1094-9194\(17\)30140-8](https://doi.org/10.1016/S1094-9194(17)30140-8)

Dutra GHP (2014) Diagnostic value of hepatic enzymes, triglycerides and serum proteins for the detection of hepatic lipidosis in *Chelonoidis carbonaria* in captivity.

Journal of Life Sciences 8:633-639.

Eatwell K, Hedley J, Barron R (2014) Reptile haematology and biochemistry. **In Practice** 36:34-42. <https://doi.org/10.1136/inp.f7488>

Edgren RA (1960) A seasonal change in bone density in female musk turtles, *Sternothaerus odoratus* (Latreille). **Comparative Biochemistry and Physiology** 1:213–217

Elia M, Livesey G (1992) Energy expenditure and fuel selection in biological systems: the theory and practice of calculations based on indirect calorimetry and tracer methods. **Metabolic control of eating, energy expenditure and the bioenergetics of obesity** 70:68-131.

Ellis KJ, Wong WW (1998) Human hydrometry: Comparison of multifrequency bioelectrical impedance with $^2\text{H}_2\text{O}$ and bromine dilution. **Journal of Applied Physiology** 85:1056–1062. <https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.3.1056>

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile Fatty Acid Analyses of Blood and Rumen Fluid by Gas Chromatography. **Journal of Dairy Science** 44:1768-1771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89956-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6)

Feldman A, Aigner E, Weghuber D, Paulmichl K (2015) The Potential Role of Iron and Copper in Pediatric Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Biomed Research International** 2015:1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/287401>

Fenton Tw, Fenton M (1979) An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. **Canadian Journal of Animal Science** 59:631-634. <https://doi.org/10.4141/cjas79-081>

Ferrioli E, Pfrimer K, Miranda-Da-Cruz B (2008) Uso de isótopos estáveis leves em ciências Nutricionais. In: Dutra De Oliveira JE, Marchini JS (Eds.) **Ciências Nutricionais**, 2nd edn. São Paulo: Sarvier (Almed), p. 443–465.

Franz R, Hummel J, Müller DWH, et al (2011) Herbivorous reptiles and body mass: Effects on food intake, digesta retention, digestibility and gut capacity, and a comparison with mammals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 158:94-101 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.09.007>

Fritz J, Hummel J, Kienzle E, et al (2010) To chew or not to chew: Fecal particle size in herbivorous reptiles and mammals. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology** 313:579-586. <https://doi.org/10.1002/jez.629>

Frye FL (1995) Nutritional considerations. In: Warwick C, Frye FL, Murphy JB (Eds.) **Health and Welfare of Captive Reptiles**, London:Springer-Science & Business Media, p. 82–97.

García-De la Peña C, Garduño-Niño E, Vaca-Paniagua F, et al (2019) Comparison of the fecal bacterial microbiota composition between wild and captive bolson tortoises (*Gopherus flavomarginatus*). **Herpetological Conservation and Biology** 14:587–600.

Gibbons PM, Whitaker BR, Carpenter JW, McDermott CT, Klaphake E, Sladky KK

- (2019) Hematology and Biochemistry Tables. In: Divers SJ, Stahl SJ (eds) **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery**, 3th edn. St. Louis: Elsevier, p. 333–350.
- Gidenne T, Bellier R (2000) Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates. Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. **Livestock Production Science** 63:141–152. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00123-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00123-2)
- Glazier DS (2005) Beyond the “3/4-power law”: Variation in the intra- and interspecific scaling of metabolic rate in animals. **Biological reviews** 80:611-662.
- Glazier DS (2009) Activity affects intraspecific body-size scaling of metabolic rate in ectothermic animals. **Journal of Comparative Physiology B** 179:821-828. <https://doi.org/10.1007/s00360-009-0363-3>
- Goessling JM, Mendonça MT, Appel AG (2018) Assessment of Seasonal Metabolic Acclimation in Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*): Does Dormancy Reduce Metabolic Rate? **Copeia** 106:56–62.
- Goldenfarb PB, Bowyer FP, Hall E, Brosious E (1971) Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology** 56:35-39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>
- Goloni C, Peres FM, Senhorello ILS, et al (2020) Validation of saliva and urine use and sampling time on the doubly labelled water method to measure energy expenditure, body composition and water turnover in male and female cats. **British Journal of Nutrition** 124:457–469. <https://doi.org/10.1017/S0007114520000963>
- Griffin RW (2003) Section IV: Palatability. In: Kvamme JL, Phillips TD (Eds.) **Petfood Technology**, 1st edn. Watt Publishing Company, p. 176–193.
- Hailey A (1998) The specific dynamic action of the omnivorous tortoise *Kinixys spekii* in relation to diet, feeding pattern, and gut passage. **Physiological Zoology** 71:57-66. <https://doi.org/10.1086/515883>
- Hailey A, Loveridge JP (1997) Metabolic depression during dormancy in the African tortoise *Kinixys spekii*. **Canadian Journal of Zoology** 75:1328-1335. <https://doi.org/10.1139/z97-757>
- Halley A (1997) Digestive efficiency and gut morphology of omnivorous and herbivorous African tortoises. **Canadian Journal of Zoology** 75:787–794. <https://doi.org/10.1139/z97-100>
- Harlow HJ, Hillman SS, Hoffman M (1976) The Effect of Temperature on Digestive Efficiency in the Herbivorous Lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. **Journal of Comparative Physiology B** 111:1–6
- Hatt JM, Clauss M, Gisler R, Liesegang A, Wanner M (2005) Fiber digestibility in juvenile galapagos tortoises (*Geochelone nigra*) and implications for the development of captive animals. **Zoo Biology** 24:185-191. <https://doi.org/10.1002/zoo.20039>
- Hemre GI, Mommsen TP, Krogdahl Å (2002) Carbohydrates in fish nutrition: Effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture Nutrition** 8:175-

194. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00200.x>

Hendrix DL (1993) Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science** 33:1306-1311. <https://doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300060037x>

Henen BT (1997) Seasonal and annual energy budgets of female desert tortoises (*Gopherus agassizii*). **Ecology** 78:283-296. <https://doi.org/10.2307/2265996>

Henen BT, Peterson CC, Wallis IR, Berry KH, Nagy KA (1998) Effects of climatic variation on field metabolism and water relations of desert tortoises. **Oecologia** 117:365-373. <https://doi.org/10.1007/s004420050669>

Henninger JM, Beresford WA (1990) Is it coincidence that iron and melanin coexist in hepatic and other melanomacrophages? **Histology and Histopathology** 5:457-459.

Hofmeyr MD, Henen BT, Walton S (2017) Season, Sex and Age Variation in the Haematology and Body Condition of Geometric Tortoises *Psammobates geometricus*. **African Zoology** 52:21-30. <https://doi.org/10.1080/15627020.2017.1284575>

Homer BL, Berry KH, Brown MB, et al (1998) Pathology of diseases in wild desert tortoises from California. **Journal of Wildlife Diseases** 34:508-523. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-34.3.508>

Hopkins WA, Roe JH, Philippi T, Congdon JD (2004) Standard and digestive metabolism in the banded water snake, *Nerodia fasciata fasciata*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 137:141-149. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2003.09.017>

Hughes GM, Gaymer R, Moore M, Woakes AJ (1971) Respiratory exchange and body size in the Aldabra giant tortoise. **Journal of Experimental Biology** 55:651-665.

Iglesias S, Thompson MB, Seebacher F (2003) Energetic cost of a meal in a frequent feeding lizard. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 135:377-382. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00076-X)

Innis CJ, Boyer TH (2002) Chelonian reproductive disorders. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice** 5:555-578.

Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al (1995) Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of Hepatology** 22:696-699. [https://doi.org/10.1016/0168-8278\(95\)80226-6](https://doi.org/10.1016/0168-8278(95)80226-6)

Jackson DC, Prange HD (1979) Ventilation and gas exchange during rest and exercise in adult green sea turtles. **Journal of Comparative Physiology** 134:315-319. <https://doi.org/10.1007/BF00709998>

Jacobson ER (2007) Overview of reptile Biology, anatomy, and Histology. In: Jacobson ER (ed) **Infectious diseases and pathology of reptiles**. Taylor & Francis: Boca Raton, pp 1-130.

Jennings WB, Berry KH (2015) Desert tortoises (*Gopherus agassizii*) are selective herbivores that track the flowering phenology of their preferred food plants. **PLoS One**

10:1–32. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116716>

Jerozolimski A (2005) **Ecologia de populações silvestres dos jabutis *Geochelone denticulata* e *G. carbonaria* (Cryptodira: Testudinidae) no território da aldeia de A'Ukre, TI Kayapó, sul do Pará** (2005). 242 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - USP, São Paulo.

Jodice PGR, Epperson DM, Visser GH (2006) Daily energy expenditure in free-ranging Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*). **Copeia** 129-136. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2006\)006\[0129:DEEIFG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2006)006[0129:DEEIFG]2.0.CO;2)

Jones TT, Hastings MD, Bostrom BL, Andrews RD, Jones DR (2009) Validation of the use of doubly labeled water for estimating metabolic rate in the green turtle (*Chelonia mydas* L.): A word of caution. **Journal of Experimental Biology** 212:2635-2644. <https://doi.org/10.1242/jeb.029330>

Jordan E, Kley S, Le NA, Waldron M, Hoenig M (2008) Dyslipidemia in obese cats. **Domestic animal endocrinology** 35:290-299. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2008.05.008>

Kamalam BS, Medale F, Kaushik S, Polakof S, Skiba-Cassy S, Panserat S (2012) Regulation of metabolism by dietary carbohydrates in two lines of rainbow trout divergently selected for muscle fat content. **Journal of Experimental Biology** 215:2567-2578. <https://doi.org/10.1242/jeb.070581>

Kassab A, Shousha S, Fargani A (2009) Morphology of Blood Cells, Liver and Spleen of the Desert Tortoise (*Testudo graeca*). **The open anatomy Journal** 1:1–10. <https://doi.org/10.2174/1877609400901010001>

Khorasani AC, Kouhfar F, Shojaosadati SA (2021) Pectin/lignocellulose nanofibers/chitin nanofibers bionanocomposite as an efficient biosorbent of cholesterol and bile salts. **Carbohydrate Polymers** 261:117883. 261:117883. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117883>

Kim HJ, Kim JH, et al (2011) Metabolomic analysis of livers and serum from high-fat diet induced obese mice. **Journal of proteome research** 10:722-731. <https://doi.org/10.1021/pr100892r>

Kirsch R, Vivien-Roels B (1984) Oxygen consumption in the tortoise, *Testudo hermanni* G., subjected to sudden temperature changes in summer and autumn. **Comparative biochemistry and physiology. A, Comparative physiology** 79:513–517.

Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al (2005) Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology** 41:1313–1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>

Knapp CR, Alvarez-Clare S (2016) Influence of morphological, chemical and physical leaf traits on food selection of a herbivorous iguana from The Bahamas. **Journal of Tropical Ecology** 32:75–78. <https://doi.org/10.1017/S0266467415000590>

Koirala RK, Ji W, Paudel P, et al (2019) The effects of age, sex and season on the macronutrient composition of the diet of the domestic Asian elephant. **Journal of**

- Applied Animal Research** 47:5–16. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1552589>
- Kristín P, Gvoždík L (2012) Influence of respirometry methods on intraspecific variation in standard metabolic rates in newts. **Comparative biochemistry and physiology. A, Comparative physiology** 163:147-151. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.05.201>
- Kritchevsky D, Story JA (1974) Binding of bile salts in vitro by nonnutritive fiber. **The Journal of Nutrition** 104:458–462. <https://doi.org/10.1093/jn/104.4.458>.
- LaBonde J (1997) Obesity in Pet Birds. **Exotic Pet Practice** 2:82–85.
- Lagarde F, Bonnet X, Corbin J, Hene B, Nagy KA, Mardonov B, Naullean G (2003) Foraging behaviour and diet of an ectothermic herbivore: *Testudo horsfieldi*. **Ecography (Cop)** 26:236-242. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2003.03365.x>
- Lau JKC, Zhang X, Yu J (2017) Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. **Journal of Pathology** 241:36–44. <https://doi.org/10.1002/path.4829>
- Li X, Zhu X, Han D, Yang Y, Jin J, Xie S (2016) Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: A comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Aquaculture Research** 47:128-139. <https://doi.org/10.1111/are.12476>
- Lickel LE (2010) **Intake, apparent digestibility, and digesta passage in leopard tortoises (*Geochelone pardalis*) fed a complete, extruded feed.** 121 f. Dissertação (Mestrado em Animal Science) Faculty of California Polytechnic State University San Luis Obispo, Califórnia.
- Liesegang A, Halt JM, Nijboer J, Forrer R, Wanner M, Isenbügel E (2001) Influence of different dietary calcium levels on the digestibility of Ca, Mg, and P in captive-born juvenile galapagos giant tortoises (*Geochelone nigra*). **Zoo Biology** 20:367-374. <https://doi.org/10.1002/zoo.1035>
- Lifson N, McClintock R (1966) Theory of use of the turnover rates of body water for measuring energy and material balance. **Journal of Theoretical Biology** 12:46–74. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90185-8](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90185-8)
- Lighton JRB (2008) **Measuring Metabolic Rates: A Manual for Scientists.** Oxford: Oxford University Press, p. 265.
- Lin S-M, Shi C-M, Mu M-M, et al (2018) Effect of high dietary starch levels on growth, hepatic glucose metabolism, oxidative status and immune response of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Fish Shellfish Immunology** 78:121–126. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.046>
- Litzgus JD, Hopkins WA (2003) Effect of temperature on metabolic rate of the mud turtle (*Kinosternon subrubrum*). **Journal of Thermal Biology** 28:595-600. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2003.08.005>
- Loehr VJT, Hofmeyr MD, Henen BT (2007) Annual variation in the body condition of a small, arid-zone tortoise, *Homopus signatus signatus*. **Journal of Arid Environments** 71:337–349. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2007.04.011>

- Mahmoud M (2015) Morphometry and Body Mass Index to Assess Health Condition in Captive Population of Greek Tortoise, *Tesudo Greaca*. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences** 45:57-62. <https://doi.org/10.5455/ajvs.180480>
- Mans C, Braun J (2014) Update on common nutritional disorders of captive reptiles. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice** 17:369-395.
- Marchiori A, da Silva ICC, de Albuquerque Bonelli M, Zanotti LCRA, Siqueira DB, Zanotti AP, Costa FS (2015) Use of computed tomography for investigation of hepatic lipidosis in captive *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** 46:320–324. <https://doi.org/10.1638/2014-0178R2.1>
- Marschall C, Gist DH (1973) Glycolytic and lipolytic effects of ovine FSH and estradiol-17 β in the lizard *Anolis carolinensis*. **General and comparative endocrinology** 20:407-412. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(73\)90195-0](https://doi.org/10.1016/0016-6480(73)90195-0)
- Martins M, Molina FB (2018) Panorama Geral dos Répteis Ameaçados do Brasil. In: Drummond M, Moreira G, Paglia, AP (Eds.) **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília: Fundação Biodiversitas.
- Marz W, Siekmeier R, Scharnagl H, Seiffert UB, Gross W (1993) Fast lipoprotein chromatography: New method of analysis for plasma lipoproteins. **Clinical chemistry** 39:2276-2281. <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.11.2276>
- Mato JM, Martínez-Chantar ML, Lu SC (2008) Methionine Metabolism and Liver Disease. **Annual Reviews of Nutrition** 28:273–293. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155438>
- McArthur S, Barrows M (2004a) Nutrition. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J (Eds.) **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**, 1st edn. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, p. 73–85.
- McArthur S, Barrows M (2004b) General care of chelonians. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J (Eds.) **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, p. 87–108.
- McArthur S, Meyer J, Innis C (2004) Anatomy and Physiology. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J (eds) **Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles**. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp 35–56.
- McCue MD (2006) Specific dynamic action: A century of investigation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 144:381-394.
- McCullagh K (1969) The growth and nutrition of the african elephant II. The chemical nature of the diet. **African Journal of Ecology** 7:91–97.
- McLean JA, Tobin G (Eds.) (1988) Animal and Human Calorimetry. Cambridge: Cambridge University Press. 335 p. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511663161>
- Meienberger C, Wallis IR, Nagy KA (1993) Food intake rate and body mass influence transit time and digestibility in the desert tortoise (*Xerobates agassizii*). **Physiological Zoology** 66:847–862. <https://doi.org/10.1086/physzool.66.5.30163827>

Moskovits DK, Bjorndal KA (1990) Diet and food preferences of the tortoises *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata* in northwestern Brazil. **Herpetologica** 207-218.

Moskovits DK, Kiester AR (1987) Activity Levels and Ranging Behaviour of the Two Amazonian Tortoises, *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata*, in North-Western Brazil. **Functional Ecology** 203-214.

Murphy WG (2014) The sex difference in haemoglobin levels in adults—mechanisms, causes, and consequences. **Blood Reviews** 28:41–47. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.blre.2013.12.003>

Nagy AKA, Clarke BC, Seely MK, Mitchell D, Lighton JRB (1991) Water and Energy Balance in Namibian Desert Sand-Dune Lizards *Angolosaurus skoogi* (Andersson, 1916). **Functional Ecology** 5:731–739.

Nagy KA (1989) Doubly-Labeled Water Studies of Vertebrate Physiological Ecology. In: **Stable isotopes in ecological research**. New York: Springer, p. 270-287.

Nagy KA (1980) CO₂ production in animals: Analysis of potential errors in the doubly labeled water method. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology** 238:R466-R473.

Nagy KA (1982) Field studies of water relations. **Biology of the Reptilia** 12:483-501.

Nagy KA, Costa DP (1980) Water flux in animals: Analysis of potential errors in the tritiated water method. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology** 238:R454-R465. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1980.238.5.r454>

Nagy KA, Medica PA (1986) Physiological ecology of desert tortoises in southern Nevada. **Herpetologica** 42:73-92.

Nagy KA, Milton K (1979) Energy Metabolism and Food Consumption by Wild Howler Monkeys (*Alouatta Palliata*). **Ecology** 60:475–480. <https://doi.org/10.2307/1936066>

Nagy KA, Montgomery GG (1980) Field Metabolic Rate, Water Flux, and Food Consumption in Three-Toed Sloths (*Bradypus variegatus*). **Journal of Mammalogy** 61:465-472. <https://doi.org/10.2307/1379840>

Nardini G, Leopardi S, Bielli M (2013) Clinical Hematology in Reptilian Species. **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice** 16:1-30.

Nelson DL, Cox MM (2004) Lehninger Principles of Biochemistry. In: Nelson DL, Cox MM (Eds.) **Lehninger Principles of Biochemistry**, Fourth Ed. Hardcover, p. 631–665.

Oftedal OT, Allen ME (1996) Nutrition as a major facet of reptile conservation. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, 15:491-497. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2361\(1996\)15:5<491::aid-zoo5>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2361(1996)15:5<491::aid-zoo5>3.0.co;2-6)

Owens FN, Bassalan M (2016) Ruminant Fermentation. In: Millen D, De Beni Arrigoni M, Pacheco L (Eds.) **Rumenology**. Switzerland: Springer International Publishing, p.

63–102.

Pace N, Rathbun EN (1945) Studies on body composition. 3. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. **Journal of Biological Chemistry** 158:685–691. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)51345-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)51345-x)

Paranzini CS, Teixeira VN, Trapp SM (2008) Principais Distúrbios Nutricionais Encontrados em Répteis Cativos – Revisão Bibliográfica. **Journal of Health Sciences** 10(2). <https://doi.org/10.9734/IJBCRR/2014/7825>

Park H-S, Jeon BH, Woo SH, et al (2011) Time-dependent changes in lipid metabolism in mice with methionine choline deficiency-induced fatty liver disease. **Molecules and Cells** 32:571–577. <https://doi.org/10.1007/s10059-011-0184-6>

Passos LF, Mello HES, Young RJ (2014) Enriching Tortoises: Assessing Color Preference. **Journal of Applied Animal Welfare Science** 17:274–281. <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.917556>

Peixoto MC, Ribeiro ÉM, Maria APJ, Loureiro BA, Di Santo LG, Putarov TC, Yoshitoshi FN, Pereira GT, Sá LRM, Carciofi AC (2018) Effect of resistant starch on the intestinal health of old dogs: fermentation products and histological features of the intestinal mucosa. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 102:e111–e121. <https://doi.org/10.1111/jpn.12711>

Penick DN, Congdon J, Spotila JR, Williams JB (2002) Microclimates and energetics of free-living box turtles, *Terrapene carolina*, in South Carolina. **Physiological and Biochemical Zoology** 75:57-65. <https://doi.org/10.1086/339219>

Pereira PVR (2015) **Perfil bioquímico sérico de jabutis *Chelonoidis carbonaria* (Reptilia, Testudinidae) mantidos em cativeiro**. 84 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

Peterson CC (1996) Anhomeostasis: Seasonal water and solute relations in two populations of the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) during chronic drought. **Physiological Zoology** 69:1324–1358. <https://doi.org/10.1086/physzool.69.6.30164263>

Pizzutto CS, Mariana ANB, Vaz Guimaraes MAB, Correa SHR (2001) Radiological anatomy and barium sulfate contrast transit time in the gastrointestinal tract of the red-footed tortoise (*Geochelone carbonaria*). **Boletín de la Asociación Herpetológica Española** 1:32-36.

Polakof S, Skiba-Cassy S, Kaushik S, et al (2012) Glucose and lipid metabolism in the pancreas of rainbow trout is regulated at the molecular level by nutritional status and carbohydrate intake. **Journal of Comparative Physiology B** 182:507-516. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0636-5>

Pough FH (1983) Amphibians and Reptiles as Low-Energy Systems. In: ASPEY WP, LUSTICK SI (Eds.) **Behavioral Energetics: The Cost of Survival in Vertebrates**, 7th edn. Columbus: Ohio State University Press, p. 141–188.

Price ER (2017) The physiology of lipid storage and use in reptiles. **Biological Reviews** 92:1406-1426. <https://doi.org/10.1111/brv.12288>

Prisingkorn W, Prathomya P, Jakovlić I, et al (2017) Transcriptomics, metabolomics and histology indicate that high-carbohydrate diet negatively affects the liver health of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **BMC Genomics** 18:1–15. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4246-9>

Provenza FD (1995) Origins of Food Preference in Herbivores. In: National Wildlife Research Center Repellents Conference 81–90.

Pryce JD (1969) A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst** 94:1151–1152. <https://doi.org/10.1039/AN969940115125>

Racette SB, Schoeller DA, Luke AH, et al (1994) Relative dilution spaces of 2H- and 18O-labeled water in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism** 267:0–5. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1994.267.4.e585>

Ramamonjisoa N, Rakotonoely H, Natuhara Y (2017) Food Preference in Relation to Resource Toughness and Protein Level in a Pond Dwelling Tadpole. **Journal of Herpetology** 51:47–51. <https://doi.org/10.1670/15-111>

Raphael BL, Klemens MW, Moehlman P, Dierenfeld E, Karesh WB (2010) Blood Values in Free-Ranging Pancake Tortoises (*Malacochersus tornieri*) **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** 25:63–67.

Ravich M, Cray C, Hess L, Arheart KL (2014) Lipid panel reference intervals for Amazon Parrots (*Amazona* species). **Journal of avian medicine and surgery** 28:209–215. <https://doi.org/10.1647/2013-055>

Rawski M, Józefiak D (2014) Body condition scoring and obesity in captive African side-neck turtles (Pelomedusidae). **Annals of Animal Science** 14:573. <https://doi.org/10.2478/aoas-2014-0037>

Richard OK, Codron D, Hagen KB, Südekum KH, Clauss M (2017) Little differences in digestive efficiency for protein and fat in mammals of different trophic guilds and digestive strategies: data constraints or fundamental functional similarity? **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 101:127–141. <https://doi.org/10.1111/jpn.12657>

Richard Tracy C, Zimmerman LC, Tracy C, Bradley KD, Castle K (2006) Rates of food passage in the digestive tract of young desert tortoises: effects of body size and diet quality. **Chelonian Conservation and Biology** 5:269–273. [https://doi.org/10.2744/1071-8443\(2006\)5\[269:ROFPIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2744/1071-8443(2006)5[269:ROFPIT]2.0.CO;2)

Roberts SB (1989) Use of doubly labeled water method for measurement of energy expenditure, total body water, water intake, and metabolizable energy intake in humans and small animals. **Canadian journal of physiology and pharmacology** 67:1190–1198.

Rowland HM, Parker MR, Jiang P, Reed DR, Beauchamp GK (2015) Comparative Taste Biology with Special Focus on Birds and Reptiles. In: Doty RL (Eds.) **Handbook of Olfaction and Gustation, Third Edit.** Hoboken: John Wiley & Sons, p. 957–982.

Sá FC, Vasconcellos RS, Brunetto MA, Filho FOR, Gomes MOS, Carciofi AC (2013)

Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: Effects on processing and digestibility. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 97:51–59. <https://doi.org/10.1111/jpn.12047>

Sadeghayobi E, Blake S, Wikelski M, Gibbs J, Mackie R, Cabrera F (2011) Digesta retention time in the Galápagos tortoise (*Chelonoidis nigra*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 160:493–497. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.08.008>

Santos MR de D, Ferreira LS, Batistote C, Grossman A, Bellini C (2009) Valores hematológicos de tartarugas marinhas *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) juvenis selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 46:491-499. <https://doi.org/10.11606/s1413-95962009000600008>

Schoeller DA (1996) Hydrometry. In: Heymsfield SB, Lohman TG, Wang Z, Going SB (Eds.) **Human Body Composition 2nd edn**. Champaign: Human Kinetics, p. 35–49

Scope A, Schwendenwein I, Schauburger G (2013) Characterization and quantification of the influence of season and gender on plasma chemistries of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*, Gmelin 1789). **Research in veterinary science** 95:59–68. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.02.017>

Secor SM (2009) Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response. **Journal of Comparative Physiology B** 179:1–56. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0283-7>

Secor SM, Diamond J (1995) Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping. **Journal of Experimental Biology** 198:1313–1325. <https://doi.org/10.1242/jeb.198.6.1313>

Secor SM, Nagy TR (2003) Non-invasive measure of body composition of snakes using dual-energy X-ray absorptiometry. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 136:379–389. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00176-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00176-4)

Secor SM, Phillips JA (1997) Specific dynamic action of a large carnivorous lizard, *Varanus albigularis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 117:515-522. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(96\)00412-4](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(96)00412-4)

Sheridan MA (1994) Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. **Journal of Comparative Physiology B Biochemistry** 107:495-508.

Sibbald IR (1982) Measurement of bioavailable energy in poultry feedingstuffs: a review. **Canadian Journal of Animal Science** 62:983-1048. <https://doi.org/10.4141/cjas82-123>

Sladky KK, Mans C (2012) Clinical Anesthesia in Reptiles. **Journal of exotic pet medicine** 21:17-31. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.013>

Stacy NI, Alleman AR, Saylor KA (2011) Diagnostic Hematology of Reptiles. **Clinics in Laboratory Medicine** 31:87–108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>

Stevens CE (1989) Evolution of vertebrate herbivores. **Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum** 86:9–19.

Stone MD, Arjmandi BH, Lovern MB (2010) Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA) as a Non-Invasive Tool for the Prediction of Bone Density and Body Composition of Turtles. **Herpetological Reviews** 41:36–42.

Stone MD, Turner AJ (2012) Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) with Non-Human Vertebrates: Application, Challenges, and Practical Considerations for Research and Clinical Practice. In: Perez-Marin CC (Ed.) **A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine**. Rijeka: InTech Open, p. 99–116.

Strong JN, Fragoso JMV (2006) Seed dispersal by *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* in northwestern Brazil. **Biotropica** 38:683-686. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2006.00185.x>

Tan Q, Wang F, Xie S, Zhu X, Lei W, Shen J (2009) Effect of high dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body composition of gibel carp (*Carassius auratus* var. gibelio). **Aquaculture Research** 40:1011-1018. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02184.x>

Tavares-Dias M, Oliveira AA, Silva MG, Marcon JL, Barcellos JF (2009) Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. **Veterinarski Arhiv** 79:601–610.

Terespolsky A, Brereton JE (2021) Investigating the Thermal Biology and Behaviour of Captive Radiated Tortoises. **Journal of Veterinary Medicine and Animal Sciences** 4:1–6.

Terman A, Brunk UT (2004) Lipofuscin. **The international journal of biochemistry & cell biology** 36:1400–1404. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.08.009>

Thompson KS (2006) **Applied Nutritional Studies With Zoological Reptiles**. 108 f. Tese (Doutorado em Philosophy) - Oklahoma State University, Stillwater.

Toledo LF, Brito SP, Milsom WK, et al (2008) Effects of Season, Temperature, and Body Mass on the Standard Metabolic Rate of Tegu Lizards (*Tupinambis merianae*). **Physiology Biochemical Zoology** 81:158–164. <https://doi.org/10.1086/524147>

Tomović L, Arsovski D, Golubović A, Bonnet X (2020) Inside the shell: body composition of free-ranging tortoises (*Testudo hermanni*). **Zoology** 142:125821. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2020.125821>

Troyer K (1984) Structure and Function of the Digestive Tract of a Herbivorous Lizard *Iguana iguana*. **Physiological Zoology** 57:1–8. <https://doi.org/10.1086/physzool.57.1.30155960>

Trullas SC, Spotila JR, Paladino F V. (2006) Energetics during hatchling dispersal of the olive ridley turtle *Lepidochelys olivacea* using doubly labeled water. **Physiological and Biochemical Zoology** 79:389-399. <https://doi.org/10.1086/499982>

Ultsch GR (2013) Metabolic scaling in turtles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 164:590–597. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.012>

Ultsch GR, Anderson JF (1988) Gas Exchange during Hypoxia and Hypercarbia of Terrestrial Turtles: A Comparison of a Fossorial Species (*Gopherus polyphemus*) with a Sympatric Nonfossorial Species (*Terrapene carolina*). **Physiological Zoology** 61:142–152. <https://doi.org/10.1086/physzool.61.2.30156145>

Veloso RR, Sakomura NK, Kawauchi IM, et al (2014) Effects of food processing and fibre content on the digestibility, energy intake and biochemical parameters of Blue-and-gold macaws (*Ara ararauna* L. - Aves, Psittacidae). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** (Berl). <https://doi.org/10.1111/jpn.12075>

VIEIRA PF (1980) **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 119 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Visscher C, Middendorf L, Günther R, et al (2017) Fat content, fatty acid pattern and iron content in livers of turkeys with hepatic lipidosis. **Lipids Health Diseases** 16:98. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0484-8>

Wang E, Donatti CI, Ferreira VL, Raizer J, Himmelstein J (2011) Food Habits and Notes on the Biology of *Chelonoidis carbonaria* (Spix 1824) (Testudinidae, Chelonia) in the Southern Pantanal, Brazil. **South American Journal of Herpetology** 6:11-19. <https://doi.org/10.2994/057.006.0102>

Wang T, Busk M, Overgaard J (2001) The respiratory consequences of feeding in amphibians and reptiles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 128:533–547. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(00\)00334-2](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(00)00334-2)

Wang Y, Liu YJ, Tian LX, Tian LX, Du ZY, Wang JT, Wang S, Xiao WP (2005) Effects of dietary carbohydrate level on growth and body composition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture research** 36:1408-1413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01361.x>

Wang ZM, Deurenberg P, Wang W, Pietrobelli A, Baumgartner RN, Heymsfield SB (1999) Hydration of fat-free body mass: Review and critique of a classic body-composition constant. **The American journal of clinical nutrition** 69:833–841. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.5.833>

Weathers WW, Nagy KA (1984) Daily energy expenditure and water flux in black-rumped waxbills (*Estrilda troglodytes*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 77:453-458. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(84\)90211-1](https://doi.org/10.1016/0300-9629(84)90211-1)

Williams JB, Nagy KA (1984) Daily Energy Expenditure of Savannah Sparrows: Comparison of Time-Energy Budget and Doubly-Labeled Water Estimates. **The Auk** 101:221-229. <https://doi.org/10.1093/auk/101.2.221>

Withers PC (1992) *Comparative Animal Physiology*. Fort Worth: Saunders College Pub, 946 p.

Wright K (2012) Feeling Green: Diagnostic and Managing liver disease in Reptiles. In: Proceedings Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. **Association of Reptilian and Amphibian Veterinary Conference**, Oakland, p. 31–36.

Xiccato G (2010) Fat digestion. In: De Blas C, Wiseman J (Eds.) **Nutrition of the Rabbit 2nd Ed.** Cambridge: CAB International, p. 56–65. <https://doi.org/10.1097/00000441-189203000-00006>

Xie D, Yang L, Yu R, Chen F, Lu R, Qin C, Nie G (2017) Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 479:696–703. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.013>

Yan J, Liao K, Wang T, Mai K, Xu W, Ai Q (2015) Dietary lipid levels influence lipid deposition in the liver of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by regulating lipoprotein receptors, fatty acid uptake and triacylglycerol synthesis and catabolism at the transcriptional level. **PLoS One** 10:1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129937>

Yuan ML, Dean SH, Longo A V., Rothermel BB, Tuberville TD, Zamudio KR (2015) Kinship, inbreeding and fine-scale spatial structure influence gut microbiota in a hindgut-fermenting tortoise. **Molecular Ecology** 24:2521–2536. <https://doi.org/10.1111/mec.13169>

Zhang Y, Xie S, et al. (2020) High dietary starch impaired growth performance, liver histology and hepatic glucose metabolism of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture Nutrition** 26:1083-1095. <https://doi.org/10.1111/anu.13066>

Zhong Y, Pan Y, Liu L, Li H, Li Y, Jiang J, Xiang J, Zhang J, Chu W (2020) Effects of high fat diet on lipid accumulation, oxidative stress and autophagy in the liver of Chinese softshell turtle (*Pelodiscus sinensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology** 240:110331. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2019.110331>

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em oposição ao verificado em diversas espécies de mamíferos e aves, para jabutis a digestibilidade da gordura foi reduzida. No estudo as rações foram formuladas para que a contribuição energética fosse maior nas dietas Amido e Gordura, com efeito direto sobre o consumo com ganho de peso associado ao acúmulo de gordura tanto em tecido adiposo quanto em fígado, o que promoveria alterações na saúde dos jabutis verificada por meio de exames hematológicos e bioquímicos séricos. Porém, a elevada eliminação da gordura nas fezes indica baixa capacidade digestiva e absorviva de lipídeos pela espécie contrapondo a hipótese do estudo e os possíveis efeitos negativos no metabolismo energético. A ingestão de

37,5% de amido também não promoveu efeitos negativos substanciais na saúde dos jabutis. A avaliação do metabolismo de lipídeos sob avaliação histológica do tecido hepático demonstra redução na degeneração microvesicular após a ingestão das rações experimentais, mas com surgimento de alterações no metabolismo de ferro e oxidativo que demandam ampliação do estudo. Questionamentos sobre os teores adequados de ferro para jabutis devem ser avaliados, pois não há valores de referência para répteis herbívoros que indiquem quais níveis são mais adequados. Em mamíferos, associa-se ao ferro alterações oxidativas que possam justificar o acúmulo de lipofucsina após a ingestão das rações com efeito marcante nos animais ingerindo a dieta Gordura.

Esperava-se um efeito marcante e benéfico sob o metabolismo de lipídeos em lipoproteínas nos jabutis ingerindo a ração Controle quando comparada as demais, o que não foi demonstrado. Este resultado nos sugere que jabutis possivelmente necessitam de maiores inclusões de fontes fibra e redução ainda mais acentuada nos teores de amido, o que limita a produção e processamento de rações. Diversas lacunas ainda estão abertas no presente estudo e demandam aprofundamento, desde a utilização dos substratos da dieta nos jabutis até o metabolismo de lipídeos, para melhor compreensão da etiopatogenia de desordens como a lipidose comumente verificadas em jabutis em cativeiro.

APÊNDICE

APÊNDICE 1

Concentrações das frações de lipoproteínas plasmáticas do pool de amostras de jabutis alimentados com as dietas experimentais.

Parâmetros*	Sexo	Dietas Experimentais		
		Controle	Amido	Gordura
<i>Colesterol (mg/dL)</i>				
VLDL	Fêmea	93,8	78,8	55,3
	Macho	20,5	33,8	25,5
IDL	Fêmea	44,3	64,3	54,8
	Macho	6,8	5,8	8,8
LDL	Fêmea	131,3	69,8	174,8
	Macho	104,3	104,8	83,3
HDL	Fêmea	10,0	8,50	16,3
	Macho	21,3	24,8	27,8
Soro Total	Fêmea	263	260	308
	Macho	148	171	139
<i>Triglicérides (mg/dL)</i>				
VLDL	Fêmea	187,3	216,5	156,3
	Macho	81,8	114,3	111,0
IDL	Fêmea	47,0	184,0	119,8
	Macho	2,0	1,0	13,8
LDL	Fêmea	86,5	107,3	139,0
	Macho	7,5	11,8	1,0
HDL	Fêmea	4,3	4,5	8,8
	Macho	0,0	0,5	0,0
Soro Total	Fêmea	332,0	520,0	526,0
	Macho	128,0	161,0	154,0

* Frações das lipoproteínas plasmáticas: VLDL – Very Low-Density Lipoprotein; IDL – Intermediary Density Lipoprotein; LDL – Low Density Lipoprotein; HDL – High Density Lipoprotein.

APÊNDICE 2

Avaliação geral dos aspectos macroscópicos e microscópicos do tecido hepático dos jabutis durante o período experimental.

Id Jabuti	Sexo	Dieta¹	Volume basal	Coloração basal	Diagnóstico histopatológico	Volume final	Coloração final	Diagnóstico histopatológico
1	F	Am	ndn	amarelo claro	marcante esteatose microgoticular difusa com discreta fibrose perisinusoidal multifocal	ndn	castanho	moderada esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose hepática e discreta fibrose perisinusoidal multifocal
2	F	Am	ndn	acinzentado	discreta hepatite portal linfocítica, moderada esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose	ndn	acinzentado	marcante esteatose microgoticular difusa, hemossiderose moderada
3	M	Am	ndn	amarelado discreto	marcante esteatose macrogoticular difusa, discreta hemossiderose e discreta fibrose perisinusoidal multifocal	umentado	amarelo	marcante esteatose macrogoticular difusa, hemossiderose discreta
4	M	Am	ndn	esverdeado	moderada esteatose microgoticular, discreta hemossiderose, discreta fibrose portal e perisinusoidal multifocal, proliferação ductuolar	ndn	castanho acinzentado	marcante esteatose microgoticular difusa, hemossiderose discreta, discreta fibrose portal e perisinusoidal multifocal, proliferação ductuolar
5	F	Am	ndn	rósea amarelado	discreta esteatohepatite linfocítica e heterofílica associada a marcante esteatose microgoticular difusa e discreta fibrose perisinusoidal multifocal	ndn	amarelo	discreta esteatohepatite linfocítica multifocal e portal, com discreta fibrose portal e proliferação ductuolar
6	M	Am	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e discreta fibrose perisinusoidal multifocal e proliferação ductuolar	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e fibrose portal e perisinusoidal
7	M	Cont	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e moderada fibrose perisinusoidal multifocal	ndn	amarela	marcante esteatose microgoticular difusa, marcante hemossiderose e moderada fibrose portal e perisinusoidal
8	M	Cont	umentado	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e proliferação ductuolar	ndn	castanho amarelado	marcante hemossiderose e fibrose portal e perisinusoidal

Id Jabuti	Sexo	Dieta¹	Volume basal	Coloração basal	Diagnóstico histopatológico	Volume final	Coloração final	Diagnóstico histopatológico
9	F	Cont	ndn	amarelo claro	marcante esteatose microgoticular difusa e proliferação ductuolar	ndn	amarelo	discreta esteatohepatite linfocítica multifocal e portal, com marcante esteatose microgoticular difusa, moderada hemossiderose, discreta fibrose portal e proliferação ductuolar
10	F	Cont	aumentado	acinzentado	marcante esteatose microgoticular difusa	ndn	acinzentado	discreta esteatose microgoticular, moderada hemossiderose e fibrose portal
11	M	Cont	ndn	róseo amarelado	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e discreta fibrose perisinusoidal multifocal	ndn	acinzentado	fibrose portal e perisinusoidal multifocal
12	F	Cont	ndn	NA	marcante esteatose microgoticular difusa	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa e fibrose perisinusoidal multifocal
13	M	Gord	ndn	NA	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e discreta fibrose portal	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose, discreta fibrose portal
14	M	Gord	ndn	amarelo claro	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hepatite portal linfocítica, discreta hemossiderose e moderada fibrose perisinusoidal multifocal e proliferação ductuolar	reduzido	amarelo	moderada esteatose microgoticular difusa, moderado depósitos de lipofucsina, discreta hemossiderose e fibrose portal e perisinusoidal multifocal
15	M	Gord	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose, fibrose portal e perisinusoidal multifocal
16	M	Gord	reduzido	acinzentado	Inadequado para diagnóstico	reduzido	NA	moderada hemossiderose, marcante número de aglomerados de melanomacrófagos e fibrose portal e perisinusoidal multifocal
17	F	Gord	ndn	amarelo claro	discreta esteatohepatite linfocítica e heterofílica associada a marcante esteatose microgoticular difusa e fibrose perisinusoidal discreta e proliferação ductuolar	aumentado	amarelo claro	discreta hepatite portal heterofílica, com marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose, discreta fibrose portal e proliferação ductuolar
18	M	Gord	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e discreta fibrose portal e proliferação ductuolar	reduzido	acastanhado	moderada hemossiderose, marcante número de aglomerados de melanomacrófagos e fibrose portal e perisinusoidal multifocal com formação de fibrose porta -portal e proliferação ductuolar

Id Jabuti	Sexo	Dieta¹	Volume basal	Coloração basal	Diagnóstico histopatológico	Volume final	Coloração final	Diagnóstico histopatológico
19	F	Gord	-	-	não realizado	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular com moderada hemossiderose e fibrose portal
20	F	Gord	-	-	não realizado	ndn	amarelo	marcante esteatose microgoticular difusa, discreta hemossiderose e proliferação ductuolar

¹ Dietas: Am = dieta experimental Amido; Cont = dieta experimental Controle ; Gord = dieta experimental Gordura

