

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” –UNESP
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

VARIAÇÃO SAZONAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS DO JABUTI PIRANGA (*Chelonoidis carbonaria*)

BRUNO CARVALHO DA SILVA BERGAMINI

Botucatu – SP

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” –UNESP
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

VARIAÇÃO SAZONAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E
BIOQUÍMICOS DO JABUTI PIRANGA (*Chelonoidis carbonaria*)

BRUNO CARVALHO DA SILVA BERGAMINI

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre.

Orientador :Prof. Dr. Raimundo Sousa Lopes.

Co-Orientador- Prof. Dr. Paulo Roberto
Rodrigues

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Bergamini, Bruno Carvalho da Silva.

Variação sazonal dos parâmetros hematológicos e
bioquímicos do jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*) /
Bruno Carvalho da Silva Bergamini. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Raimundo Sousa Lopes

Coorientador: Paulo Roberto Rodrigues

Capes: 50503030

1. Jabuti - Distribuição sazonal. 2. Hematologia
veterinária. 3. Quelônio. 4. Bioquímica. 5. Animais
silvestres.

Palavras-chave: Bioquímica do plasma; Eritrograma;
Leucograma; Quelônios; Sazonalidade.

Nome do Autor: Bruno Carvalho da Silva Bergamini

Titulo: VARIAÇÃO SAZONAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO JABUTI PIRANGA (*Chelonoidis carbonaria*)

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof Ass. Dr. Raimundo Souza Lopez
Presidente e Orientador
Departamento Clínica Veterinária/ Laboratório Clínico
FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof^a Ass Dr^a. Regina Kiomi Takahira
Membro
Departamento Clínica Veterinária/ Laboratório Clínico
FMVZ-UNESP-Botucatu

Prof^a Titular Dr^a. : Nádia Regina Pereira Almosny
Membro
Departamento Patologia e Clínica Veterinária
Faculdade de Veterinária Universidade Federal Fluminense

Data da Defesa: 27/09/2016

Agradecimentos

Agradeço ao CEMPAS e ao Programa Centrofauna por fornecer os jabutis para o estudo e ao Laboratório Clínico Professora Doutora Aguemi Kohayawa, por disponibilizar o espaço que os exames fossem realizados. E todas as pessoas que trabalham nesses locais por estar sempre à disposição para auxiliar na pesquisa

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Análise Estatística Descritiva de todos os valores do Hemograma e dos exames Bioquímicos dos Jabutis Piranga (*Chelonoidis carbonaria*), durante os doze meses de amostragem. Botucatu. SP. 201623
- Tabela 2- Teste de normalidade de todos os parâmetros Hematológicos e Bioquímicos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*), durante todo o período de análise, resultados não apresentam distribuição normal quando $P < 0,05$ (resultado em vermelho) Botucatu 201624
- Tabela 3- Análise Estatística Descritiva de todos os parâmetros Hematológicos e Bioquímicos dos Jabutis Piranga (*Chelonoidis carbonaria*), com discriminação entre as estações. Botucatu. SP. 201625
- Tabela 4- Comparação entre estações, Verão(V), Outono (O), Inverno (I) e Primavera, para todos os valores hematológicos e Bioquímicos do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*), modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05. Botucatu- SP 201626
- Tabela 5- Comparação entre estações, Verão(V), Outono (O), Inverno (I) e Primavera, para todos os valores hematológicos e Bioquímicos dos machos da espécie *C. carbonaria*, modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05. Botucatu- SP 201627
- Tabela 6- Comparação entre estações, Verão(V), Outono (O), Inverno (I) e Primavera, para todos os valores hematológicos e Bioquímicos das fêmeas da espécie *C. carbonaria*, modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações

	correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05. Botucatu- SP 2016	28
Tabela 7-	Comparação estatística entre os sexos dos resultados do eritrograma. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes. Botucatu SP 2016	29
Tabela 8-	Comparação estatística entre os sexos dos resultados do Leucograma e da contagem estimada de Trombócitos. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes quando os resultados de ambos os sexos atingiram uma distribuição normal. Quando esta não foi atingida foi utilizado o teste de Mann Whitney para calcular o $P(*)$, Botucatu SP 2016	30
Tabela 9-	Comparação estatística entre os sexos dos resultados dos Exames Bioquímicos. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes quando os resultados de ambos os sexos atingiram uma distribuição normal. Quando esta não foi atingida foi utilizado o teste de Mann Whitney para calcular o $P(*)$, Botucatu SP 2016	31
Tabela 10-	Comparação dos resultados Eritrocitários do Jabuti Piranga (<i>C. carbonaria</i>), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio	138

Tabela 11- Comparação dos resultados Leucocitários do Jabuti Piranga (<i>C. carbonaria</i>), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio	139
Tabela 12- Comparação dos resultados Bioquímicos do Jabuti Piranga (<i>C. carbonaria</i>), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio	140

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Diferenciação das Espécies *Chelonoidis denticulata* (esquemas à esquerda) e *Chelonoidis carbonaria* (esquemas à direita), através dos escudos do plastrão e casco e escamas da cabeça (Fonte: ITTSJ 1968.....14
- Figura 2- Eritrócitos e trombócitos típicos encontrados nos esfregaços de *C. carbonaria*. A: Dois eritrócitos com um Trombócito livre no meio deles, B: Um eritrócitos com um agregado de trombócitos abaixo dele. MO 1000X. Botucatu 201619
- Figura 3- Leucócitos típicos encontrados em nos esfregaços de *C. carbonaria*. A: Heterófilo, B: Eosinófilo, C: Basófilo, D: Linfócito, E: Monócito, F: Azurófilo. MO 1000X. Botucatu 201619
- Figura 4- Eritrócito jovem, célula menor, em comparação com eritrócito maduro, célula maior, células encontradas no esfregaço de *C. carbonaria*. MO 100X. Botucatu 2016.....21
- Figura 5- Leucócitos atípicos eventualmente encontrados em esfregaços de *C. carbonaria*. A: Heterófilo toxico com granulação toxica. B: Heterófilo toxico segmentado com corpúsculo granular no citoplasma. C: Linfócito reativo com características de plasmócito, complexo de Golgi evidente e núcleo excêntrico com cromatina fina. MO 100X. Botucatu 2016.....21
- Figura 6- Variação da Contagem da Contagem total de Eritrócitos (Eritrócitos) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....35
- Figura 7- Variação da Concentração de Hemoglobina (HB) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....36
- Figura 8- Variação do Volume Globular (VG) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....36

Figura 9- Variação do Volume Corpuscular Médio (VCM) do Jabuti Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	36
Figura 10- Variação da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) do Jabuti Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	37
Figura 11- Variação dos Leucócitos totais dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos	39
Figura 12 - Variação dos Heterófilos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	40
Figura 13 - Variação dos Eosinófilos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	40
Figura 14 - Variação dos Basófilos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	41
Figura 15- Variação dos Linfócitos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	41
Figura 16 - Variação dos Monócitos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	42
Figura 17 - Variação dos Azurófilos absolutos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos.....	42
Figura 18- Variação das médias mensais dos Trombócitos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise sem discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.....	43

Figura 19- Variação da Proteína Plasmática Total aferida por refratometria dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016.	45
Figura 20- Variação da Proteína Plasmática Total aferida por espectrofotometria dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016.	46
Figura 21- Variação da Ureia dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	48
Figura 22- Variação do Ácido Úrico dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	48
Figura 23- Variação da ALT/TGP dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	50
Figura 24- Variação da AST/TGO dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	50
Figura 25- Variação da Glicose dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	53
Figura 26- Variação do Colesterol dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	53
Figura 27- Variação dos Triglicerídeos dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	54
Figura 28- Variação da CK ao dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	55

Figura 29- Variação da FA dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	58
Figura 30- Variação do Cálcio dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	58
Figura 31- Variação do Fósforo dos Jabutis Piranga (<i>C. carbonaria</i>) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016	59
Figura 32- Variação da média mensal das aferições da temperatura ambiente no momento da coleta ao longo dos doze meses de análise. Botucatu SP 2016	60
Figura 33- Variação da temperatura média mensal da região de Botucatu longo dos doze meses de análise. (Fonte: INMET). Botucatu SP 2016	60
Figura 34- Variação da precipitação pluviométrica total mensal da região de Botucatu longo dos doze meses de análise. (Fonte: INMET). Botucatu SP 2016	61

LISTA DE ABREVIATÖES

Ácido Úrico- Ac. Úrico
Alanina Aminotransferase- ALT
Aspartado Aminotransferase- AST
Autumn- A
Azurófilo- Azuro.
Basófilos- Baso
Colesterol: Coles.
Concentração de Hemoglobina- Hb
Concentração e Hemoglobina Corpuscular Média- CHCM
Contagem total de Eritrócitos- Eritrócitos
Creatina Quinase- CK
Eosinófilos- Eosino.
Fêmeas- F
Fosfatase Alcalina- FA
Glicose- Glico.
Heterófilo- Hete.
Hematocrit- HCT
Hemoglobin Concentration- HGB
Inverno- I
Leucócito- Leuco
Volume globular- VG
Linfócitos- Linfo.
Machos- M
Monócitos- Mono.
Microscopia Ótica- MO
Outono- O
Primavera- P
Proteína Plasmática total- PPT
Proteína Plasmática total aferida pelo espectrofotômetro- PPTE
Proteína Plasmática total aferida pelo refratômetro- PPTR
Red Blood Cell Count- RBC
Spring- Sp
Summer- Su
Triglicerídeos: Trigli.
Verão- V
Volume Corpuscular Médio- VCM
White Blood Cell Count- WBC
Winter-W

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Espécie Estudada.....	4
2.2. Meteorologia da Região	5
2.3. Análise Laboratorial do Sangue de Quelônios	6
3. OBJETIVOS	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1. Local de Realização	12
4.2. Animais	12
4.3. Delineamento Experimental	14
4.4. Avaliação Laboratorial das Amostras	15
4.5. Avaliação Meteorológica da Região de Estudo	16
4.6. Cálculo Estatístico	17
5. RESULTADOS	17
5.1. Particularidades da coleta	17
5.2. Morfologia Normal das Células e Aspecto Geral do Plasma	18
5.3. Achados dos Exames Laboratoriais	20
5.4. Resultados da Análise Estatística	21
5.5. Eritrograma	33
5.6. Leucograma	37
5.7. Contagem Estimada de Trombócitos	43
5.8. Proteína Plasmática Total-refratometria e espectrofotometria	44
5.9. Avaliação do Sistema Renal- Ácido Úrico e Ureia	46
5.10. Avaliação do Metabolismo Hepático-Alanina Aninotransferase(ALT) e Aspartato Amino Transferase(AST)	49
5.11. Avaliação do Metabolismo Energético-Glicose, Colesterol e Triglicerídeos	51
5.12. Avaliação do Metabolismo Muscular- Creatina Quinase (CK)	54
5.13. Avaliação do Metabolismo Osseo- Fosfatase Alcalina(FA), Cálcio e Fósforo	55
5.14. Resultado da Aferição da Temperatura Ambiente e Precipitação total	59
6. DISCUSSÃO	61
6.1. Hematologia	61
6.1.1. Eritrograma	62
6.1.2. Leucograma.....	66
6.1.3. Contagem Estimada dos Trombócitos	71
6.2. Bioquímica	71

6.2.1. Proteína Plasmática Total	72
6.2.2. Sistema Renal- Ureia e Ácido Úrico	74
6.2.3. Metabolismo Hepático- Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST)	77
6.2.4. Metabolismo Energético- Glicose, Colesterol e Triglicerídeos	80
6.2.5. Metabolismo Muscular- Creatina Quinase(CK)	84
6.2.6. Metabolismo Ósseo-Fosfatase Alcalina(FA), Cálcio, Fósforo	85
7. CONCLUSÕES	89
8. BIBLIOGRAFIA	89
9. TRABALHO CIENTÍFICO	95
APENDICE	138
ANEXOS	141

BRUNO, B.C.S. **Variação Sazonal dos Parâmetros Hematológicos e Bioquímicos do Jabuti Piranga (*Chelonoidis carbonaria*)**. Botucatu, 2016, 124p. Dissertação (Mestrado)— Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista

RESUMO

O jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*) é uma espécie de quelônio bastante frequente em zoológicos e centros de triagem brasileiros e cujos exemplares podem ser encontrados em vários locais do Brasil. O objetivo deste trabalho consistiu em estudar as variações ambientais e sazonais que interferem na hematologia e nos exames bioquímicos de um grupo de *C. carbonaria* mantidos em um ambiente não controlado. Foram coletadas amostras de 30 animais, clinicamente saudáveis e na idade adulta; realizaram-se coletas mensais de sangue total e plasma durante o período de doze meses. O hemograma completo foi realizado em todas as amostras de sangue com heparina, enquanto no plasma heparinizado foram aferidos: proteína plasmática Total (PPT), ureia, ácido úrico (Ac. Úrico), alanina aminotransferase (ALT); aspartato aminotransferase (AST), glicose, colesterol total, triglicerídeos, creatina quinase (CK) fosfatase alcalina (FA), cálcio e fósforo. Os principais resultados médios gerais foram: Eritrócitos: $0,522 \times 10^6$ cel/ μ L; Hb: 6,13 g/dL; VG: 25,37%; Leucócitos totais: 8697,67 cel/ μ L; Trombócitos: 9007,54 cel/ μ L; PPT: 4,35 g/dL; Ureia: 24,33 mg/dL; Ac. Úrico: 1,66 mg/dL; ALT: 12,46 UI/L; AST: 209,52 UI/L; Glicose: 72,16 mg/dL; Colesterol: 221,37 mg/dL; Triglicerídeos: 367,76 mg/dL; CK: 903,94 UI/L; FA: 53,57 mg/dL; Cálcio: 13,15 mg/dL; Fósforo: 4,83 mg/dL. Os jabutis apresentaram uma diminuição do consumo de alimento e da atividade metabólica durante o outono evidenciado pelos resultados baixos de Eritrocitos, Hb, VG, PPT e Glicose. As fêmeas que durante a primavera e o verão apresentaram valores elevados de Eritrócitos, Hb, VG e Triglicerídeos e diminuídos de Glicose. Comprovando que houve variações sazonais e sexuais nos parâmetros analisados.

Palavras Chave: Bioquímica do plasma, Eritrograma, Leucograma, Quelônios, Sazonalidade.

Bergamini B. C. S. **Seasonal variation of hematological and Biochemicals parameters of the Red footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria*)** Botucatu, 2016, 124p. Dissertation (Master degree)— Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista

ABSTRACT

The Red Footed Tortoise (*Chelonoidis carbonaria*) is quite common chelonian in zoos and wildlife centers with wide distribution over Brazil; this is one of the main reptilian species seen by wild animals veterinarians. This project focused on how environmental and gender variations interfere on hematology and biochemical tests of a *C. carbonaria* group kept in an uncontrolled environment. Thirty adult and clinically healthy animals were selected to monthly blood collection during twelve months. Complete blood count was performed in all blood samples; total plasma protein(TPP), urea, uric acid, aspartate alanine aminotransferase(ALT), aminotransferase (AST), glucose, total cholesterol, triglycerides, creatine kinase(CK), alkaline phosphatase(FA), calcium and phosphorus were analyzed in heparinized plasma samples. The principals médian results were: RBC: $0,522 \times 10^6$ cel/ μ L; HGB: 6,13 g/dL; PCV: 25,37%; WBC: 8697,67 cel/ μ L; Thrombocytes: 9007,54 cel/ μ L; TPP:4,35 g/dL; Urea: 24,33 mg/dL; Uric Acid :1,66 mg/dL; ALT: 12,46 UI/L; AST: 209,52 UI/L; Glucose: 72,16 mg/dL; Total Cholesterol: 221,37 mg/dL; Triglycerides:367,76 mg/dL; CK: 903,94 UI/L; FA: 53,57 mg/dL; Calcium: 13,15 mg/dL;Phosporus:4,83 mg/dL. The tortoises showed a decrease in food intake and metabolic activity during the fall evidenced by the low values of RBC, HGB, PCV, TPP and glucose. Females during the spring and summer had higher values of RBC, HGB PCV and triglycerides and lower glucose. Showing that seasonal e sexual variations occurred on the analyzed parameters

Key words: Chelonians, Erythrogram, Leukogram, Plasma Biochemistry, Seasonality.

1. INTRODUÇÃO

Os jabutis piranga (*Chelonoidis carbonaria*) são quelônios terrestres dotados de corpos compactos, cascos abobadados e pesados, membros cilíndricos e robustos. Eles são considerados animais de estimação e frequentemente são recebidos para atendimento na clínica de animais silvestres (DUTRA, 2014).

Tais animais, comumente são acometidos por doenças infecciosas que atingem pele, sistemas respiratório e gastrointestinal, dentre outros. Uma ampla variedade de agentes ocasiona tais quadros e erros de manejo atuam como fatores predisponentes. As enfermidades não infecciosas são geralmente causadas por erros nutricionais - como a hipocalcemia, que leva ao raquitismo; ou o consumo excessivo de proteína, gordura, cálcio e fósforo, que pode levar a distúrbios de crescimento do casco (casco piramidal) (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007).

O *C. carbonaria* habita áreas adjacentes a florestas e cerrado, sendo encontrado mais frequentemente em estados da região Norte e Centro-Oeste como Mato Grosso e Roraima; porém também já foi avistado em estados da região Sudeste como o Espírito Santo. Estes quelônios são um componente importante no ecossistema regional por auxiliarem na dispersão de sementes, já que se alimentam de plantas, flores e frutos (SILVA-SOARES et al., 2011).

Os indivíduos de vida livre também sofrem com a exploração do homem, pois são caçados para alimentação e utilizados como ingredientes na medicina popular. Este é um dos motivos pelos quais a espécie se encontra em risco de extinção, caso a exploração não seja controlada (FARIAS et al., 2007).

Os jabutis costumam se reproduzir durante as épocas mais quentes do ano, na primavera e no verão (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007). Alterações nos parâmetros hematológicos durante a estação reprodutiva já foram observadas em outras espécies de quelônios (KELLY et al., 2015); porém, para constituir um melhor panorama de quando estas alterações são mais evidentes, a realização de coletas seriadas mais frequentes, tanto dentro quanto fora da estação reprodutiva, se faz necessária.

Como os demais répteis, os Jabutis são ectotérmicos; ou seja, sua temperatura corporal é influenciada pelas condições ambientais. Alguns

autores também os classificam como animais heliotérmicos, já que eles procuram a luz do sol para se aquecer (ALMOSNY 2014). Já foi observado em outras espécies de répteis que, devido a esta característica, os parâmetros hematológicos e bioquímicos tendem a variar em função das condições ambientais e da época do ano. Estes estudos também demonstraram diferenças importantes entre indivíduos machos e fêmeas (ANDREANI et al., 2014; BIELLI et. al., 2015; KELLY et. al., 2015), porém estes realizaram apenas uma coleta por estação, dificultando o discernimento entre variações efetivamente sazonais e as causadas pela eventualidade. Ademais, estudos recentes a respeito da hematologia e bioquímica de *C. carbonaria* não foram encontrados na literatura.

Devido à importância dos jabutis dentro e fora do cativeiro, à falta de informações relacionadas à fisiologia e à variação encontrada entre espécies de quelônios, existe a necessidade de determinar os parâmetros hematológicos e bioquímicos desta espécie em situações ambientais não controladas; para assim melhor definir a fisiologia destes indivíduos, o que é fundamental para realização de um atendimento clínico adequado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Espécie Estudada

Segundo a divisão taxonômica, os Jabutis Piranga pertencem a Classe Reptilia, subclasse Anapsida, ordem Chelonia, subordem Cryptodira, super família Testudinoidea. No Brasil existem três espécies, todas pertencentes ao gênero *Chelonoidis*: Jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*), o Jabuti tinga (*C. denticulata*), e o Jabuti argentino (*C. chilensis*) (BOYER e BOYER 2006). Todas se caracterizam por ter corpos compactos e membros locomotores cilíndricos; serem onívoros com tendência ao herbivorismo; e possuírem expectativa média de vida entre 80 a 100 anos (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007).

O *C. carbonaria* habita áreas adjacentes a grandes florestas como a Amazônia e áreas de vegetação mais seca como o cerrado, sendo encontrado em estados como Roraima, Mato Grosso do Sul e Espírito Santo. Em vida livre possui um papel considerável no equilíbrio do ecossistema, por se alimentar de frutas, contribuindo assim para a dispersão de sementes (STRONG e

FRAGOSO, 2006; FARIAS et al., 2007; SILVA-SOARES et al., 2011). Porém é ameaçado por causa do desmatamento do seu habitat e pela caça para alimentação e a formulação de medicamentos populares (COSTA-NETO 1999; FARIAS et al., 2007). Apesar dessas ameaças, a espécie não possui risco de extinção imediato, mas pode vir a se tornar ameaçada se sua exploração não for controlada. (FARIAS et al., 2007). Outra forma de exploração consiste na sua comercialização como animal de companhia, tanto dentro quando fora do Brasil (FUJISAKI et. al., 2010).

Os jabutis se alimentam de folhas, flores, frutos, gramíneas, invertebrados, carcaças e outros alimentos que encontram no solo. Em cativeiro devem ser alimentados com uma dieta que inclua: vegetais (70 -85 % da dieta), frutas (10-20 % da dieta) e proteína animal (5 a 10% da dieta). (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007)

São animais ovíparos, cuja estação reprodutiva ocorre na primavera e no verão - os meses em que a confecção de ninhos ocorre podem variar de acordo com a região - mas trabalhos já observaram que ela costuma ocorrer entre os meses de outubro e março. O período de incubação dos ovos dura de 60 a 90 dias (OMAR e HERNANDES 1997; CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007).

São propensos a desenvolver doenças metabólicas, como a hipocalcemia - que leva ao raquitismo - ou a hipercalcemia, que leva a anormalidades no crescimento do casco. Outras afecções não infecciosas incluem o prolapso de pênis e a distocia. Entre as doenças infecciosas podem-se citar dermatites, pneumonias e gastroenterites. Estas podem ser causadas por vários agentes e apresentam como fatores predisponentes erros de manejo ou desnutrição. Também podem ser potenciais transmissores da *Salmonella spp.* para humanos (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007; DUTRA, 2014).

2.2. Meteorologia da Região

Segundo dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia o clima da região de Botucatu, é bem estável. O período mais chuvoso situa-se entre dezembro e fevereiro, onde as temperaturas ficam entre 21° C e 24° C e a precipitação pluviométrica total varia entre 128 mm e 354 mm. Os meses mais secos são julho, agosto e setembro, onde a temperatura média varia entre 16° C e 20° C e a precipitação varia entre 0,0 mm e 64,4mm (INMET).

Estes dados indicam que a região de Botucatu possui um clima temperado úmido com Inverno seco e Verão quente (Cwa) segundo a classificação internacional de Köppen-Geiger (PEEL et al., 2007).

2.3. Análise laboratorial do Sangue de Quelônios

A análise laboratorial do sangue de todos os animais auxilia na monitoração da sua saúde e na diferenciação entre processos fisiológicos e patológicos. Tanto a hematologia quanto a bioquímica possuem uma descrição limitada para os quelônios e répteis em geral (CHRISTOPHER et al., 1999; ROVIRA, 2010).

Uma particularidade dos répteis - principalmente em quelônios - que pode prejudicar os exames hematológicos e bioquímicos é a contaminação da amostra com linfa, pois a distribuição anatômica dos vasos linfáticos e dos vasos sanguíneos é similar; portanto a linfa pode ser coletada juntamente com o sangue e diluir a amostra. Alguns pontos de coleta - como a veia jugular - possuem menor risco de contaminação (CHRISTOPHER et al., 1999 e CAMPBELL 2012a).

O anticoagulante mais recomendado para a coleta de sangue de quelônios é a heparina lítica, pois não causa lise nos eritrócitos, diferente do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; ROVIRA, 2010; CAMPBELL, 2012a). A maioria dos trabalhos pesquisados faz uso da heparina lítica (CHRISTOPHER et al., 1999; ZAIAS et al., 2006; CHAFFIN et al., 2008; BRYANT et al., 2012), porém um dos trabalhos mais recentes envolvendo uma espécie de tartaruga de água doce da Inglaterra (*Emys marmorata*) (KELLER et al., 2012) utilizou outro tipo de anticoagulante, o ácido etilenodiaminotetracético dipotássico (K_2EDTA) e obteve resultados satisfatórios. Ainda assim, por se tratar de um estudo singular em uma espécie diferente, não é possível afirmar que as amostras de sangue do *C. carbonaria* não apresentariam hemólise neste anticoagulante.

Devido às alterações celulares que a heparina lítica induz, como agregação de trombócitos e leucócitos, recomenda-se confeccionar um esfregaço sanguíneo a partir de uma amostra que ainda não teve contado com o anticoagulante, imediatamente após a coleta, para que seja possível realizar uma análise adequada da morfologia das células (CAMPBELL, 2012a).

O eritrograma consiste na mensuração dos eritrócitos, analisados segundo os valores de volume globular (VG), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e análise morfológica das hemácias na lâmina de esfregaço (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007). O volume globular, a concentração de hemoglobina e a contagem de eritrócitos auxiliam tanto no diagnóstico da anemia quanto na avaliação da intensidade desta (TVEDTEN, 2010; THRALL, 2012). A hemoglobina dos répteis possui uma estrutura semelhante a dos mamíferos, porém com menor afinidade pelo oxigênio (MURRAY, 2006). Os répteis - assim como as aves, anfíbios e peixes - possuem hemácias nucleadas, de formato ovalado e apresentam uma menor contagem total de eritrócitos quando comparados a mamíferos ou mesmo aves. Ademais, há uma relação inversa entre os valores da contagem total de eritrócitos e o tamanho médio das hemácias em répteis (ROVIRA, 2010; CAMPBELL, 2012a).

Hemácias jovens podem aparecer em pequena quantidade no esfregaço sanguíneo de quelônios clinicamente saudáveis, estas células são menores, mais arredondadas e apresentam núcleo com cromatina mais fina que as hemácias maduras (ROVIRA, 2010; CAMPBELL, 2012a).

A maioria dos trabalhos pesquisados encontrou variações consideráveis para os parâmetros do eritrograma segundo o clima ou o sexo do animal; sendo geralmente elevados em épocas mais quentes (CHRISTOPHER et al., 1999; MACHADO et al., 2006; ZAIAS et al., 2006; CHAFFIN et al., 2008) e apresentam diferença considerável entre os sexos (CHRISTOPHER et al., 1999; ZAIAS et al., 2006; ANDREANI et al., 2014; BIELLI et al., 2015).

A contagem total de leucócitos deve ser interpretada em associação com o seu diferencial (WEISER, 2012). Os répteis possuem seis tipos de leucócitos visíveis ao esfregaço sanguíneo, os quais são classificados como: heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e azurófilos. Em muitas das espécies foi detectada variação em determinados tipos de leucócitos em função da estação do ano, sexo e status de hibernação (CHRISTOPHER et al., 1999; MACHADO et al., 2006; ZAIAS et al., 2006; CHAFFIN et al., 2008; BRYANT et al., 2012).

Os heterófilos nos quelônios possuem núcleos ovais, não segmentados e excêntricos, apresentando citoplasma com grânulos eosinofílicos fusiformes. Durante processos patológicos podem apresentar sinais de toxidade (como segmentação e citoplasma basofílico). Sua determinação contribui para a detecção de processos inflamatórios, estressantes ou neoplásicos (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; ROVIRA, 2010; STACY et al., 2011; CAMPBELL 2012a).

Os eosinófilos possuem núcleos ovais, seus grânulos citoplasmáticos são eosinofílicos e redondos. Sua mensuração contribui para o diagnóstico de processos parasitários ou inflamatórios (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007, ROVIRA, 2010; STACY et al., 2011; CAMPBELL, 2012a).

Os basófilos são redondos e pequenos, dotados de núcleo não lobulado e grânulos basofílicos no citoplasma. Estas células não possuem função esclarecida em répteis, mas sua aferição é importante, pois podem representar uma grande porcentagem dos leucócitos em quelônios (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; ROVIRA, 2010; STACY et al., 2011; CAMPBELL, 2012a). Além disso, em algumas espécies de quelônios já foi detectada variação em função da estação do ano (CHRISTOPHER et al., 1999; CHAFFIN et al., 2008).

Os linfócitos se assemelham aos de aves e mamíferos. São células com alta razão núcleo/citoplasma, com núcleo redondo e cromatina densa e citoplasma levemente basofílico. Podem apresentar variação de tamanho no esfregaço. Sua aferição auxilia na detecção de processos patológicos, já que sua população aumenta em casos de estímulo imune, doença viral ou cicatrização e diminui em situações de estímulo estressante (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; ROVIRA, 2010; STACY et al., 2011; CAMPBELL, 2012a). Autores encontraram variação na quantidade ou na porcentagem de linfócitos, de acordo com o sexo, a estação do ano e a hibernação (CHRISTOPHER et al., 1999; MACHADO et al., 2006; ZAIAS et al., 2006).

Durante a contagem diferencial, nos répteis é possível encontrar uma quantidade ínfima de plasmócitos (0,5%), sendo que este achado não é considerado patológico nestes animais. Estas células possuem núcleo excêntrico com cromatina fina; o citoplasma é azulado e apresenta um Complexo de Golgi evidente (ROVIRA, 2010; CAMPBELL, 2012a).

Os monócitos são células grandes apresentando núcleo e citoplasma pleomórficos. O citoplasma é abundante e pode conter vacúolos. A mensuração desta célula auxilia no diagnóstico de processos inflamatórios crônicos e processos que envolvem a formação de granulomas. Algumas pesquisas relatam variação do número de monócitos em função da estação do ano (CHRISTOPHER et al., 1999; MACHADO et al., 2006; ZAIAS et al., 2006).

Os azurófilos dos quelônios são muito parecidos com os monócitos; a distinção das duas células só é realizada observando-se a presença de pequenos grânulos azurofílicos (metacromáticos) nos primeiros (ROVIRA, 2010; STACY et al., 2011; CAMPBELL, 2012a). Na literatura encontram-se trabalhos em que os autores mensuraram os dois tipos celulares (CHRISTOPHER et al., 1999; KELLER et al., 2012; KELLY et al., 2015), ou determinaram apenas a quantidade de monócitos (ZAIAS et al., 2006; BIELLI et al., 2015) ou de azurófilos (CHAFFIN et al., 2008).

Os trombócitos são células elípticas a fusiformes, possuem um núcleo central com cromatina densa e citoplasma incolor. Muitas vezes estas células encontram-se agregadas no esfregaço devido à heparina, ou à demora na confecção do esfregaço fresco, o que dificulta a sua mensuração. São responsáveis pela coagulação nos répteis. Sua mensuração auxilia na avaliação da hemostasia (ROVIRA, 2010; CAMPBELL, 2012a).

A análise bioquímica em quelônios pode ser feita a partir de amostras do plasma ou soro. A partir de uma mesma quantidade de sangue total é possível conseguir um maior volume de plasma do que de soro. (BRYANT et al., 2012; CAMPBELL, 2012b). Por este motivo e pela dificuldade em coletar grandes quantidades de sangue destes animais, muitos autores optaram por realizar a análise bioquímica no plasma (ZAIAS et al., 2006; KELLER et al., 2012; KELLY et al., 2015).

A aspartato aminotransferase (AST) é usada principalmente para avaliar o tecido hepático, já que existe em grande concentração no fígado dos répteis. Esta enzima pode aumentar devido à lesão hepática, muscular, ou em alguns quadros sistêmicos como a septicemia (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2012b). Foi utilizada por Christopher et al., (1999) e Chaffin et al.,

(2008) para detectar a variação da atividade metabólica durante o ano. Além disso, seu valor varia consideravelmente entre os sexos (CAMPBELL, 2012b).

A alanina aminotransferase (ALT) também pode ser encontrada no fígado dos répteis; apesar de poder ser encontrada em outros órgãos, considera-se que esta enzima é mais influenciada pela atividade hepática, sendo mais órgão específica que a AST. Sua atividade é normalmente baixa no plasma dos répteis e por isso é menos confiável do que a AST para avaliar a lesão hepática (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2012b). Todavia, assim como a AST, estudos apontam uma variação considerável para esta enzima entre as estações do ano (CHRISTOPHER et al., 1999; CHAFFIN et al., 2008).

A fosfatase alcalina (FA) não é órgão-específica nos répteis; o aumento desta enzima normalmente indica o aumento da atividade osteoblástica (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2012b). Trabalhos já encontraram diferenças consideráveis de valores da FA em épocas do ano distintas (CHRISTOPHER et al., 1999; CHAFFIN, et al., 2008).

A creatina quinase (CK) é considerada uma enzima específica do tecido muscular, podendo ser utilizada para detectar lesões musculares, como aquelas que ocorrem devido à resistência à contenção durante a coleta ou captura dos animais. Portanto esta enzima pode ser usada para avaliar a qualidade da coleta (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CHAFFIN, et al., 2008; CAMPBELL, 2012b). Já foi detectada uma variação dessa enzima em relação à estação do ano e em relação ao sexo (ZAIAS et al., 2006; CHAFFIN, et al., 2008).

O ácido úrico e a ureia são os principais produtos finais do metabolismo de proteínas nos répteis terrestres e aquáticos, respectivamente. Suas aferições podem ser utilizadas para detectar lesões nos rins, por serem excretados por estes órgãos (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2012b). O ácido úrico também pode ser um indicativo do consumo de proteínas na dieta de quelônios terrestres (CHRISTOPHER et al., 1999; ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CAMPBELL, 2012b). A mensuração da ureia é mais importante nos quelônios aquáticos (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CHAFFIN, et al., 2008; CAMPBELL, 2012b). Em quelônios terrestres sua

mensuração já foi utilizada para avaliar o grau de desidratação (CHRISTOPHER et al., 1999).

A determinação da glicose é a principal forma de analisar a nutrição em répteis (CHRISTOPHER et al., 1999; CAMPBELL, 2012b), auxiliando no diagnóstico de desnutrição, septicemia e diabetes mellitus (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007).

A aferição do colesterol e dos triglicerídeos é uma boa forma de avaliar a nutrição e a atividade reprodutiva dos quelônios. Fêmeas normalmente possuem maior concentração de ambos, devido à vitelogênese (síntese do vitelo dos ovos) (CHRISTOPHER et al., 1999; ZAIAS et al., 2006; CAMPBELL, 2012b). Já foram detectadas também diferenças sazonais para estes lipídeos (CHRISTOPHER et al., 1999).

A determinação da proteína plasmática total (PPT) ajuda a avaliar a desidratação e a nutrição desses animais. (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007; CHRISTOPHER et al., 1999; CAMPBELL, 2012b). Fêmeas podem apresentar hiperproteinemia na fase folicular ativa, a qual é induzida pelo estrogênio (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007).

Os valores de cálcio e fósforo variam muito entre machos e fêmeas, devido à produção de ovos pelas últimas (CAMPBELL, 2012b). Por este motivo em alguns trabalhos foi observada uma maior concentração de cálcio nos indivíduos desse sexo durante a época reprodutiva (CHRISTOPHER et al., 1999; BRYANT et al., 2012; CAMPBELL, 2012b). A aferição de cálcio e fósforo é particularmente importante em jabutis, pois estes possuem predisposição a desenvolver doenças ósseo-metabólicas hipocalcêmica, ou raquitismo (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007)

3. OBJETIVOS

- Obter valores laboratoriais que poderão auxiliar no atendimento dos indivíduos do *Chelonoidis carbonaria* e contribuir para o estabelecimento de valores de referencia da espécie.
- Determinar os valores hematológicos e bioquímicos de um grupo de *Chelonoidis carbonaria* durante os doze meses do estudo.

-Verificar a interferência sazonal e sexual sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo de animais amostrados ao longo dos doze meses de experimento (janeiro- dezembro) e entre os sexos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de realização

A pesquisa foi conduzida no Centro de Medicina e Pesquisa de Animais Selvagens (CEMPAS), no Laboratório Clínico Veterinário Profa. Dra. Aguemí Kohayagawa da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP, *Campus* de Botucatu e no Programa Centrofauna do Instituto Floravida, na cidade de Botucatu/SP. O recinto que os animais eram mantidos no CEMPAS (recinto 1) possuía as dimensões de 5,29m por 8,68m, o solo era arenoso e não havia muita proteção contra a luz solar e o vento. No centro havia uma pequena fonte e reservatório retangular de água. O recinto do Centrofauna (recinto 2), possuía solo argiloso, era no meio de fragmento mata atlântica que fornecia alguma proteção contra a luz solar e o vento, havia também uma fonte de água

4.2. Animais

No recinto localizado no CEMPAS havia cerca de 70 animais de duas espécies diferentes de quelônios terrestres, o jabuti piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e o jabuti tinga (*Chelonoidis denticulata*) além de alguns animais híbridos das duas espécies. Durante alguns períodos do ano estes animais dividiram o recinto com outras espécies de quelônios, como o tigre d'água (*Trachemys scripta elegans*/ *Trachemys dorbigni*). Eventualmente o recinto recebia novos quelônios de origens diversas. Os mesmos eram pré-avaliados antes de entrar em contato com os animais do recinto. No recinto localizado no Centrofauna havia cerca de 20 animais de duas espécies de jabutis, *C. carbonaria* e *C. denticulata*, além de animais híbridos das duas espécies.

Para o estudo somente a espécie *Chelonoidis carbonaria* foi utilizada, os animais foram selecionados segundo características fenotípicas específicas desta espécie, segundo as orientações descritas pela Sociedade Internacional

de tartarugas (Internacional Turtle and Tortoise Society, ITTSJ 1968) que descrevem como diferenciar as duas espécies mais comuns de jabutis do Brasil, *C. carbonaria* e *C. denticulata* a partir de características como a disposição das escamas faciais dos escudos do plastrão e casco (Figura 1)

Foram coletadas amostras de sangue de 30 jabutis piranga (*C. carbonaria*) quinze machos e quinze fêmeas, 24 jabutis residiam no recinto 1, localizado no CEMPAS e 6 jabutis residiam no recinto 2 localizado no CentroFauna. Os indivíduos foram mantidos em um recinto aberto, exposto às variações ambientais, como temperatura, luminosidade, umidade e precipitação pluviométrica. A dieta foi formulada de acordo com Boyer e Boyer (2006) e Cubas e Baptistotte (2007), consistindo de porções variadas de frutas e legumes da estação (como por exemplo, banana, cenoura e beterraba), os animais do recinto 1 recebiam alimentação uma vez por dia enquanto os do recinto 2 recebiam alimentação uma vez a cada três dias. Só participaram do trabalho animais saudáveis, tanto em relação à condição clínica quanto em relação aos exames laboratoriais. Para que houvesse garantias destas condições, antes do início do experimento todos os jabutis foram avaliados clinicamente e tiveram seus parâmetros hematológicos e bioquímicos analisados. Aqueles que apresentaram valores fora da referência segundo Teare (2013), ou discrepantes em relação ao conjunto de animais, foram substituídos por outros indivíduos de mesmo sexo que foram submetidos às mesmas avaliações. Os animais receberam uma marcação no casco como forma de identificação assim foi possível garantir que sempre eram os mesmos animais amostrados; além disso, a marcação possibilitou avaliar a variação individual de cada animal. O projeto obteve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Universidade, sob protocolo nº 100/2015 (Anexo 1) e do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – (ICMBio) sob protocolo número 49615-1 (Anexo 2)

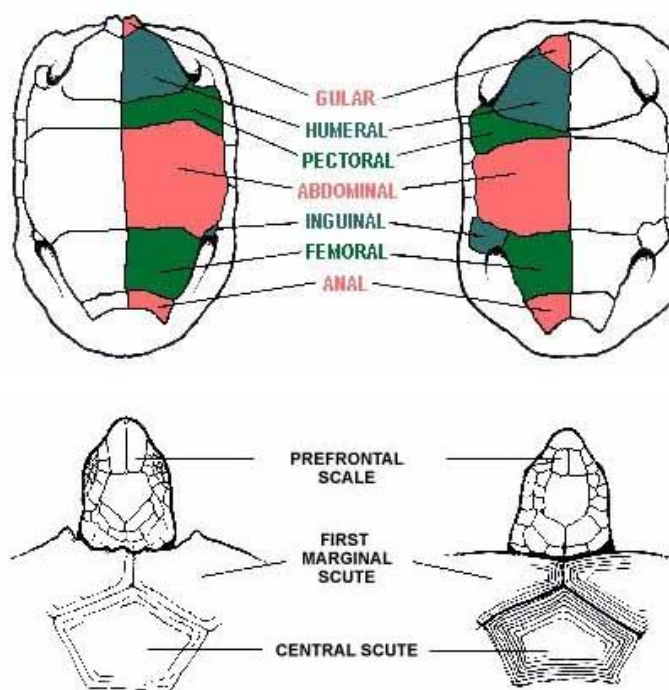


FIGURA 1: Diferenciação das Espécies *Chelonoidis denticulata* (esquemas à esquerda) e *Chelonoidis carbonaria* (esquemas à direita), através dos escudos do plastrão e casco e escamas da cabeça (Fonte: ITTSJ 1968)

4.3. Delineamento experimental.

As coletas de sangue para a pré-avaliação foram feitas em dezembro de 2014. As coletas que fizeram parte da avaliação da variação sazonal e sexual foram realizadas mensalmente entre janeiro e dezembro de 2015, totalizando assim treze momentos de análise.

Antes da colheita os animais foram submetidos no mínimo doze horas de jejum para garantir a qualidade da amostra e evitar interferências. Às colheitas de sangue eram realizadas preferencialmente pela manhã. As amostras eram processadas imediatamente após a colheita. Realizava-se a colheita de sangue de 4 a 8 animais por dia, totalizando assim 4 a 5 dias de colheita a cada mês de amostragem. Cada momento de colheita iniciou-se com a aferição da temperatura ambiente por meio de um termômetro; assim como o exame clínico de cada animal, segundo Zaias et al., (2006) e Chaffin et al., (2008). Em seguida o animal era contido fisicamente para exposição e assepsia do local de colheita. Foram coletados aproximadamente 2 mL de sangue por venopunção da veia jugular; para tal, foram utilizadas seringas de 3

mL acopladas a agulhas 0,55 x 20 mm (24G) (CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007). Eventualmente havia a necessidade de utilização de outro local de colheita - como a veia coccígea dorsal ou a veia braquial - devido a dificuldades na contenção física. Imediatamente após a obtenção da amostra eram confeccionados esfregaços sanguíneos a partir de uma TGOa de sangue sem anticoagulante (CAMPBELL, 2012a). A amostra era então dividida em dois tubos contendo heparina lítica (um microtubo de 1 mL e um tubo Vacuette^{®1} de 4 mL), obtendo-se assim duas amostras: uma seria utilizada para o hemograma enquanto outra era utilizada para avaliações de bioquímica e de eletroforese, respectivamente.

4.4. Avaliação Laboratorial das Amostras.

Todas as análises hematológicas foram realizadas a partir das amostras coletadas em microtubo. As contagens totais de eritrócitos e leucócitos foram obtidas por contagem manual em câmara de Neubauer com diluente Natt-Herrick (1:100). O volume globular foi determinado pelo método do micro-hematócrito. A proteína plasmática total foi determinada pelo método da refratometria, utilizando o plasma obtido através da quebra do capilar do micro-hematócrito. A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método de cianometahemoglobina (LABTEST). Após a reação e antes da leitura da amostra, esta era centrifugada (PowerSpin^{®2} VX Centrifuge Unico^{®3}) a 3000 rpm durante 10 minutos, a fim de eliminar a interferência dos núcleos das hemácias na aferição. Os esfregaços sanguíneos foram corados com Panótico rápido^{®4} (ALMOSNY e MONTEIRO, 2007) e utilizados na contagem estimada de leucócitos e trombócitos. Estas foram realizadas da seguinte maneira: foi feita a média de leucócitos e trombócitos por campo em dez campos. Foram utilizados os aumentos de 400x para contar os leucócitos e de 1000x para contar os trombócitos. Posteriormente, as médias foram multiplicadas pelos seguintes fatores: 1500(leucócitos) (SYKES IV e KLAPHAKE, 2015) e 3500 (trombócitos) (CAMPBELL 2012a). A estimativa de leucócitos foi utilizada para conferir o valor obtido na câmara de NeuBauer e a estimativa de trombócitos foi utilizada como parâmetro para avaliar a população e a variação anual desta célula. Os esfregaços também foram utilizados na contagem diferencial de leucócitos e na análise morfológica das células. Tais análises foram realizadas

^{®4}: IB Laborclin

em microscópico óptico com objetiva de imersão (1000x), segundo indicado por Almosny e Monteiro, 2007 e Almosny 2014. Para a contagem diferencial de leucócitos foram considerados os seguintes tipos celulares: Heterófilos, Eosinófilos, Basófilos, Linfócitos, Monócitos e Azurófilos.

A amostra contida no tubo de 4 mL foi centrifugada (PowerSpin® VX Centrifuge Unico®) a 3000 rpm por 10 minutos para obtenção do plasma com heparina sendo este em seguida congelado a -20°C; posteriormente, o mesmo foi descongelado para a análise bioquímica.

O plasma foi analisado em aparelho de bioquímica automática (COBAS®). Os parâmetros analisados foram: Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Creatina Quinase (CK), determinadas pelo método cinético UV (EBRAM); a Fosfatase Alcalina (FA), pelo método p-Nitrofenilfosfato (EBRAM); o ácido úrico, pelo método enzimático colorimétrico, UOD-PAP (BIOCLIN); a Ureia, pelo método cinético (KATAL); a Glicose, pelo método enzimático colorimétrico (KATAL); o Colesterol total, pelo método enzimático colorimétrico, colesterol oxidase peroxidase; os Triglicerídeos pelo método enzimático colorimétrico, GPO Peroxidase (EBRAM); e a Proteína Plasmática Total pelo método colorimétrico, biureto (EBRAM); o Cálcio, pelo método colorimétrico, Arsenazo III (EBRAM); o Fósforo, pelo método Molibdato (KATAL).

4.5. Avaliação Meteorológica da Região de Estudo

Além da aferição da temperatura no dia de coleta, através da colaboração do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), foram reunidos dados climatológicos e pluviométricos da região de Botucatu no ano 2015. As aferições foram feitas na base do INMET mais próxima de Botucatu, a base de Avaré-SP. Posteriormente os dados fornecidos foram agrupados em gráficos utilizando-se o Microsoft Excel (Figuras 33 e 34)

Desta forma seria possível observar se o Botucatu possui as características de um clima temperado úmido com inverno seco e verão quente (Cwa) descritas pelo sistema de Koppen-Geiger (PEEL et al., 2007)

Segundo o Sistema Meteorológico do Paraná (Simepar) as mudanças de estações no Brasil ocorrem nos solstícios e equinócios. As datas específicas que houve mudança de estação no país em 2015 foram: de verão para outono

no dia 20 de março; de outono para inverno no dia 21 de junho; de inverno para primavera no dia 23 de setembro e de primavera para verão dia 22 de dezembro. Com base nestas datas determinou-se que cada estação de análise seria composta por três momentos de colheita. Assim dividiu-se o período de análise da seguinte forma: Colheitas de Janeiro a Março corresponderiam às colheitas do Verão; colheitas de Abril a Junho corresponderiam às do Outono; colheitas de Julho a Setembro corresponderiam às do Inverno e colheitas de Outubro a Dezembro corresponderiam às da Primavera.

4.6. Cálculo estatístico.

Todos os dados foram reunidos e analisados segundo o método da estatística descritiva. As variáveis foram submetidas ao teste de Kolmogorov-Smirnov para determinar a normalidade e por consequência sua confiabilidade (BUSSAB e MORETTIN, 2002, VIEIRA 2008). Posteriormente a variação por mês e por estação foi analisada utilizando-se o Modelo estatístico misto, através do programa R versão 2.12.2. (BATES et al., 2014).

Depois que os resultados de cada sexo foram agrupados, o Modelo estatístico misto foi utilizado para verificar a variação de cada sexo entre as estações do ano (BATES et al., 2014). Para visualizar a variação de cada sexo ao longo da Pré-avaliação e dos doze meses de avaliação, foram confeccionados gráficos boxplot para cada variável.

Para comparar os resultados entre os sexos foi empregado o Teste T para amostras independentes nos momentos onde ambos os sexos obtiveram resultados com distribuição normal ($p > 0,05$), nos momentos onde a distribuição não foi normal utilizou-se o teste de Mann Whitney (BUSSAB & MORETTIN, 2002).

5. RESULTADOS

5.1. Particularidades da coleta

Sete indivíduos (quatro machos e três fêmeas) apresentaram irregularidades clínicas ou laboratoriais durante a pré-avaliação e foram substituídos por outros de mesmo sexo e adaptados ao mesmo ambiente.

Na maioria dos casos foi possível coletar uma amostra de volume satisfatório a partir da veia jugular. Após duas coletas, um indivíduo (fêmea) necessitou ser excluído do estudo devido a dificuldades de contenção e impossibilidade de se obter uma amostra de sangue livre de contaminação por linfa, nenhum exame deste animal foi considerado na análise estatística. A partir do terceiro mês, o número total de animais amostrados passou a ser 29.

Durante o último mês de coleta seis jabutis fugiram do recinto onde eram mantidos, todos foram encontrados e realocados em seu recinto antes do dia de coleta. Porém, um deles (macho), apresentou sinais de anemia e inflamação nos exames laboratoriais. Por estes motivos e a amostra deste animal foi excluída durante a análise estatística.

Eventualmente alguns animais apresentaram sinais clínicos pontuais como diarreia ou secreção nasal durante a coleta, porém os mesmos indivíduos não apresentaram resultados laboratoriais discrepantes do resto do grupo; portanto estas amostras foram consideradas na análise estatística.

5.2. Morfologia normal das células e aspecto geral do plasma

Nos esfregaços as células normalmente apresentaram-se na seguinte morfologia: As hemácias tinham formato oval núcleo central com cromatina condensada o citoplasma apresentava coloração acidofílica (Figura 2). Os heterófilos possuíam núcleo sem segmentação e excêntrico, citoplasma com grânulos eosinofílicos em formato fusiforme (Figura 3A). Os eosinófilos apresentavam núcleo sem segmentação, citoplasma com grânulos eosinofílicos com formato redondo (Figura 3B). Os basófilos apresentavam tamanho variado, possuíam núcleos sem segmentação e citoplasma com pequenos grânulos basofílicos (Figura 3C). Os linfócitos foram encontrados em diversos tamanhos, apresentavam núcleos grandes com cromatina fina, alta relação núcleo/ citoplasma, citoplasma levemente basofílico (Figura 3D). Os monócitos eram células grandes com núcleo e citoplasma pleomórficos, apresentavam citoplasma abundante e levemente basofílico, e por vezes vacuolizado (Figura 3E). Os azurófilos possuíam núcleo e citoplasma pleomórficos, o citoplasma era abundante e basofílico, este apresentava grânulos azurofílicos finos (Figura 3F). Os trombócitos eram células pequenas, que apresentavam alta relação

núcleo/citoplasma, citoplasma incolor, com formato oval a fusiforme, estas células foram encontradas livres(Figura 2A) e agregadas (Figura 2B).

O plasma apresentou variadas intensidades de coloração amarelada e o aspecto normalmente era límpido

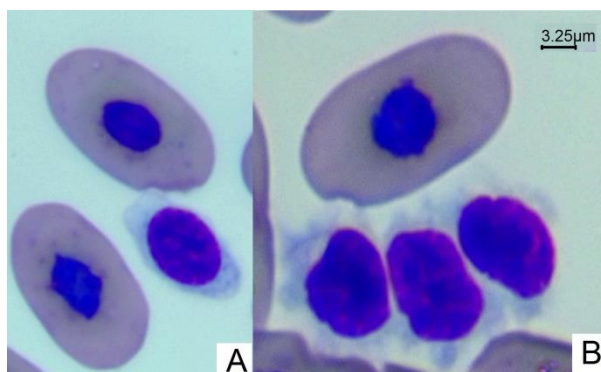


FIGURA 2: Eritrócitos e trombócitos típicos encontrados nos esfregaços de *C. carbonaria*. A: Dois eritrócitos com um Trombócito livre no meio deles, B: Um eritrócito com um agregado de trombócitos abaixo dele. MO 1000X. Botucatu 2016

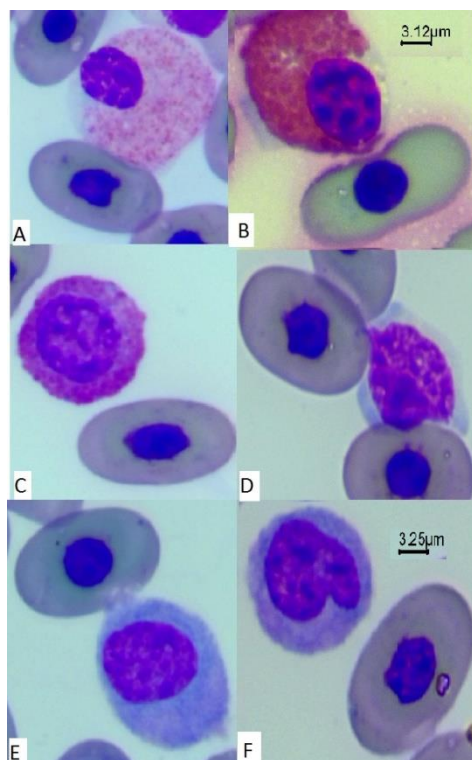


FIGURA 3: Leucócitos típicos encontrados em nos esfregaços de *C. carbonaria*. A: Heterófilo, B: Eosinófilo, C: Basófilo , D: Linfócito, E: Monócito, F: Azurófilo. MO 1000X. Botucatu 2016

5.3. Achados nos exames laboratoriais

Foram encontradas discretas alterações em alguns esfregaços sanguíneos, como discreta anisocitose (Figura 4) e raros heterófilos tóxicos (Figuras 5A e 5B). Como estas alterações precisam estar presentes em alto grau para serem consideradas clinicamente relevantes (CAMPBELL, 2012a) os respectivos exames não foram excluídos.

No diferencial eventualmente foram observados linfócitos características de plasmócitos (núcleo excêntrico, cromatina fina, Complexo de Golgi evidente e citoplasma azulado) (Figura 5C), porém a porcentagem destas células nunca ultrapassou 1%. Por este motivo elas foram contadas como linfócitos na análise estatística, e sua presença foi anotada nas observações.

Muitos animais apresentaram agregação trombocitária no esfregaço sanguíneo (Figura 2B), devido provavelmente à demora entre a coleta e a confecção do esfregaço, por este motivo não foi possível realizar a contagem estimada de trombócitos nestes indivíduos e como a heparina não impede a agregação trombocitária foi impossível contar esta célula na câmara de NeuBauer, assim não foi possível obter valores da contagem de trombócitos nestes casos.

Durante o primeiro mês de análise um indivíduo apresentou 30% heterófilos tóxicos (Figuras 5A e 5B), foi tratado com uma aplicação de enrofloxacin na dose de 5 mg/kg, 60 dias depois estas células desapareceram. Ou seja, a presença de heterófilos tóxicos neste caso pode ser relacionada a um processo inflamatório sem sinais clínicos.

Nas aferições de outubro um indivíduo do sexo feminino apresentou varias alterações morfológicas tanto nas hemácias quanto nos leucócitos; como poiquilocitose e ativação de monócitos, com presença de fagocitose de hemácias, leucócitos e trombócitos. Esta aferição foi excluída da análise estatística. No mês seguinte o animal não apresentava mais alterações relevantes, a não ser uma leve anisocitose; por este motivo, as amostras posteriores foram consideradas.

Dois animais apresentaram diferentes graus de plasma de coloração esverdeada em alguns momentos de análise; o que indica acúmulo de

biliverdina no mesmo (CAMPBELL, 2012b). Os resultados bioquímicos destes indivíduos não apresentaram discrepância com o resto do grupo.

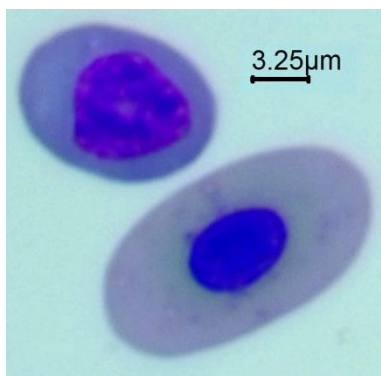


FIGURA 4: Eritrócito jovem, célula menor, em comparação com um eritrócito maduro, célula maior, células encontradas no esfregaço de *C. carbonaria*. MO 1000X. Botucatu 2016

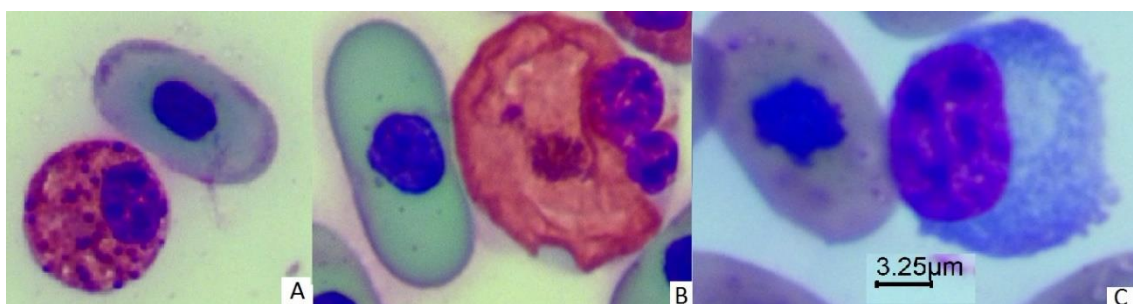


FIGURA 5: Leucócitos atípicos eventualmente encontrados em esfregaços de *C. carbonaria*. A: Heterófilo tóxico com granulação tóxica. B: Heterófilo tóxico segmentado com corpúsculo granular no citoplasma. C: Linfócito reativo com características de plasmócito, complexo de Golgi evidente e núcleo excêntrico com cromatina fina. MO 1000X. Botucatu 2016

5.4. Resultados da Análise Estatística

A tabela 1 representa uma análise estatística descritiva geral, abrangendo todos os dados confiáveis em todos os momentos de coleta. Enquanto a tabela 2 representa o teste de normalidade aplicado para todas as variáveis que fazem parte do exame de hemograma. A tabela 3 apresenta a estatística descritiva de cada estação, abrangendo os dados confiáveis agrupados por estação do ano, cada estação composta por três momentos de colheita como descrito acima.

Houve variações significativas ($p < 0,05$) pontuais entre os meses de colheita para todos os parâmetros do hemograma exceto os para os eosinófilos absolutos, houve diferenças significativas entre machos e fêmeas para os parâmetros de contagem total de eritrócitos (Eritrócitos), concentração de hemoglobina (Hb), volume globular (VG), eosinófilos absolutos, monócitos absolutos e azurófilos. Não foi possível fazer os testes do modelo estatístico misto na contagem estimada de trombócitos devido à impossibilidade de aferir este parâmetro em muitos dos esfregaços devido a agregação, no entanto foi possível fazer a uma análise descritiva da variável (Tabela 1) e comparar os resultados de machos e fêmeas (Tabela 5)

Em relação aos Bioquímicos, houve diferenças significativas pontuais entre os meses de colheita, para todos os parâmetros analisados, houve também diferenças entre os sexos para a maioria dos parâmetros bioquímicos em pelo menos um mês de análise (tabela 5).

Os parâmetros que apresentaram variações entre as estações estão descritos na tabela 4.

As Tabelas 5 e 6 apresentam as variações específicas de cada sexo entre as estações

As tabelas 7, 8 e 9 apresentam as medias mensais de cada sexo para cada parâmetro analisado e os resultados estatísticos do teste T de amostras independentes e do teste de Mann Whittney (resultados seguidos de um asterisco) que avaliaram se houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os sexos em cada momento de análise.

TABELA 1: Análise Estatística Descritiva dos valores do Hemograma e dos exames Bioquímicos dos Jabutis Piranga(*Chelonoidis carbonaria*), durante os doze meses de amostragem. Botucatu. SP. 2016

	N	Média	Desv. Pad	Mínimo	Máximo
Peso (Kg)	343	4,67	1,09	2,36	7,01
Eritrócitos ($\times 10^6$ cel/ μ L)	343	0,52	0,08	0,24	0,79
Hb (g/dL)	343	6,13	1,02	2,52	8,80
VG (%)	343	25,37	3,75	13,00	35,00
VCM (fl)	343	488,86	48,15	339,46	660,92
CHCM (g/dL)	343	24,19	2,07	17,16	29,47
Leucócitos Totais (cel/ μ L)	343	8697	2283	4800	19700
Heterófilos (%)	343	41	14,44	12	85
Eosinófilos (%)	343	9	7,56	0	59
Basófilos (%)	343	10	5,93	0	34
Linfócitos (%)	343	34	14,12	1	69
Monócitos (%)	343	3	3,36	0	33
Azurófilos (%)	343	3	2,36	0	12
Heterófilos Absolutos (cel/ μ L)	343	3595	1647	928	10835
Eosinófilos Absolutos (cel/ μ L)	343	799	837	0	8201
Basófilos Absolutos (cel/ μ L)	343	853	552	0	3580
Linfócitos Absolutos (cel/ μ L)	343	2997	1516	63	8385
Monócitos Absolutos (cel/ μ L)	343	230	296	0	2639
Azurófilos Absolutos (cel/ μ L)	343	223	218	0	1379
Trombócitos estimados (cel/ μ L)	199	9008	3418	3500	20700
PPT (Refratômetro) (g/dL)	343	4,98	0,96	2,20	8,80
PPT (Espectrofotometro) (g/dL)	343	4,35	0,87	2,050	6,670
Ureia mg/dL	343	24,33	13,88	1,00	103,00
Ácido urico mg/dL	343	1,66	1,13	0,10	8,40
ALT(TGP) UI/L	343	12,46	11,23	2,00	74,00
AST(TGO) UI/L	343	209,52	112,08	30,00	718,00
Glicose mg/dL	343	72,16	24,92	22,00	174,50
Colesterol mg/dL	343	221,37	102,66	49,00	519,00
Triglicerídeos mg/dL	343	367,76	316,89	8,00	1563,00
CK UI/L	342	903,94	731,12	66,00	4691,00
FA UI/L	343	53,57	21,50	14,00	125,00
Cálcio mg/dL	343	13,15	4,71	5,67	57,30
Fósforo mg/dL	321	4,83	3,34	1,30	35,20

TABELA 2: Teste de Normalidade de todos os parâmetros Hematológicos e Bioquímicos dos Jabutis Piranga (C. carbonaria), durante todo o período de análise, resultados não apresentaram distribuição normal quando $p < 0,05$ (resultados em vermelho). Botucatu SP 2016

	Pré-Avaliação	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Entrócitos	0,732	0,997	0,822	0,876	0,930	0,750	0,996	0,668	0,673	0,967	0,902	0,657	0,310
HB	0,920	0,944	0,542	0,620	0,613	0,754	0,779	0,907	0,824	0,951	0,533	0,975	0,496
VG	0,648	0,709	0,672	0,766	0,841	0,774	0,744	0,665	0,866	0,211	0,090	0,107	0,079
VCM	0,954	0,992	0,882	0,969	0,507	0,816	0,885	0,902	0,969	0,526	0,886	0,972	0,502
CHCM	0,677	0,813	0,833	0,516	0,861	0,479	0,966	0,987	0,943	0,203	0,954	0,831	0,871
Leucócitos Totais	0,614	0,477	0,745	0,555	0,224	0,982	0,710	0,481	0,895	0,660	0,287	0,978	0,102
Heterófilos Relativos	0,928	0,981	0,849	0,878	0,578	0,891	0,636	0,632	0,973	0,887	0,716	0,885	0,233
Eosinófilos Relativos	0,616	0,124	0,610	0,951	0,068	0,195	0,092	0,014	0,392	0,229	0,247	0,377	0,140
Basófilos Relativos	0,389	0,662	0,400	0,333	0,718	0,232	0,899	0,116	0,335	0,689	0,666	0,889	0,457
Linfócitos Relativos	0,264	0,979	0,978	0,753	0,976	0,618	0,794	0,846	0,820	0,946	0,913	0,982	0,959
Monócitos Relativos	0,021	0,006	0,244	0,015	0,007	0,114	0,040	0,040	0,064	0,230	0,117	0,005	0,136
Azurófilos Relativos	0,029	0,096	0,160	0,184	0,015	0,080	0,769	0,094	0,324	0,066	0,085	0,097	0,015
Heterófilos Absolutos	0,993	0,757	0,596	0,747	0,260	0,831	0,295	0,840	0,770	0,399	0,521	0,444	0,182
Eosinófilos Absolutos	0,972	0,005	0,050	0,497	0,031	0,130	0,070	0,136	0,512	0,138	0,333	0,187	0,148
Basófilos Absolutos	0,478	0,714	0,732	0,731	0,662	0,089	0,324	0,399	0,427	0,378	0,525	0,614	0,687
Linfócitos Absolutos	0,418	0,969	0,978	0,293	0,661	0,542	0,820	0,278	0,822	0,335	0,819	0,297	0,593
Monócitos Absolutos	0,082	0,003	0,190	0,704	0,111	0,267	0,545	0,430	0,351	0,891	0,395	0,183	0,296
Azurófilos Absolutos	0,050	0,206	0,183	0,733	0,200	0,114	0,311	0,137	0,758	0,267	0,557	0,116	0,215
Trombócitos estimados	0,624	0,896	0,854	0,529	0,686	0,977	0,740	0,858	0,973	0,918	0,957	0,333	0,421
PPT (Refratômetro)	0,555	0,037	0,787	0,598	0,504	0,899	0,693	0,990	0,585	0,967	0,590	0,399	0,910
PPT (Espectrofotômetro)	0,891	0,906	0,986	0,592	0,726	0,961	0,966	0,749	0,610	0,822	0,833	0,854	0,967
Ureia	0,723	0,235	0,884	0,835	0,566	0,011	0,729	0,544	0,451	0,470	0,491	0,411	0,401
Acido úrico	0,627	0,196	0,277	0,153	0,375	0,124	0,363	0,044	0,762	0,546	0,385	0,435	0,305
ALT (TGP)	0,216	0,381	0,117	0,069	0,003	0,042	0,008	0,136	0,344	0,775	0,068	0,469	0,149
AST (TGO)	0,259	0,047	0,188	0,114	0,100	0,151	0,094	0,094	0,170	0,100	0,110	0,141	0,183
Glicose	0,320	0,739	0,999	0,580	0,908	0,466	0,503	0,219	0,129	0,512	0,633	0,588	0,147
Colesterol	0,301	0,829	0,452	0,932	0,882	0,994	0,970	0,421	0,576	0,267	0,399	0,204	0,364
Triglicerídeos	0,156	0,162	0,383	0,624	0,752	0,907	0,826	0,442	0,802	0,501	0,419	0,131	0,071
CK	0,092	0,492	0,728	0,729	0,160	0,664	0,650	0,416	0,397	0,379	0,384	0,178	0,061
FA	0,981	0,886	0,581	0,506	0,781	0,954	0,901	0,932	0,643	0,607	0,792	0,510	0,747
Cálcio	0,071	0,019	0,500	0,192	0,913	0,833	0,806	0,582	0,468	0,250	0,149	0,006	0,069
Fósforo	0,116	0,010	0,190	0,007	-	0,183	0,052	0,123	0,116	0,081	0,085	0,037	0,415

TABELA 3: Análise Estatística Descritiva de todos os parâmetros Hematológicos e Bioquímicos dos Jabutis Piranga (*Chelonoidis carbonaria*), com discriminação entre as estações. Botucatu. SP. 2016

	Verão				Outono				Inverno				Primavera	
	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Eritrócitos ($\times 10^6$ cells/ μ L)	0,54	0,08	0,37	0,68	0,51	0,08	0,37	0,65	0,52	0,05	0,43	0,67	0,44	0,68
HB (g/dL)	6,00	0,99	3,85	8,24	5,94	1,06	4,40	8,10	6,13	0,79	4,80	7,80	5,33	8,40
VG (%)	25,679	3,89	18,33	32,00	24,83	4,16	18,67	31,67	24,90	2,91	20,00	32,67	21,33	33,33
VCM (fl)	478,82	29,58	421,57	563,56	490,88	35,51	389,86	556,21	480,84	35,17	390,75	564,84	424,86	551,78
CHCM (g/dL)	23,381	1,43	20,45	25,78	23,97	1,55	20,21	27,25	24,67	1,26	22,04	26,84	22,46	27,71
Leucócitos Totais (cells/ μ L)	9005	1778	7233	14300	8859	1864	6067	13467	9063	2170	6233	15900	5767	13900
Heterófilos (%)	48	12	24	79	42	11	20	56	40	12	16	61	20	70
Eosinófilos (%)	9	7	0	38	10	7	2	32	8	7	1	27	1	22
Basófilos (%)	9	5	1	20	9	5	2	21	9	5	2	23	3	27
Linfócitos (%)	29	11	9	54	33	11	17	50	38	11	22	56	15	61
Monócitos (%)	4	3	1	11	3	2	1	13	2	1	0	4	0	5
Azudófilos (%)	1	1	0	3	3	1	0	6	2	1	0	4	1	7
Heterófilos Absolutos (cells/ μ L)	4317	1401	2037	7784	3638	1168	1925	7007	3629	1386	1552	7575	1437	7252
Eosinófilos Absolutos (cells/ μ L)	839	969	0	5342	925	818	229	4417	770	620	141	2515	50	1605
Basófilos Absolutos (cells/ μ L)	812	425	139	2125	785	464	198	2210	836	500	183	2441	200	2197
Linfócitos Absolutos (cells/ μ L)	2582	1087	874	5439	2993	1242	1420	5491	3444	1400	1416	6658	1029	5521
Monócitos Absolutos (cells/ μ L)	324	253	105	1058	274	147	68	801	164	102	0	588	18	379
Azudófilos Absolutos (cells/ μ L)	131	61	34	283	244	149	37	777	220	129	0	646	88	713
Trombócitos estimados (cells/ μ L)	10672	2998	5300	16650	10032	2194	6500	17200	6650	2202	3500	11200	4200	17200
PPT (Refratômetro) (g/dL)	4,84	0,78	2,67	6,27	4,76	0,85	2,67	6,67	5,01	0,77	3,27	6,73	3,27	8,10
PPT (Espectrofotômetro) (g/dL)	4,17	0,78	2,27	5,57	4,08	0,85	2,38	5,41	4,52	0,74	3,02	6,18	2,76	6,04
Ureia (mg/dL)	19,59	8,56	5,63	38,50	25,44	12,80	8,17	62,67	26,89	12,02	10,03	51,90	13,80	63,80
Ácido úrico (mg/dL)	0,83	0,28	0,43	1,67	0,80	0,26	0,23	1,33	2,28	0,74	1,33	4,30	2,00	3,75
ALT (TGP) (U/L)	9,93	7,89	2,00	34,00	7,38	8,10	2,00	33,33	13,21	4,40	5,67	25,00	4,00	39,33
AST (TGO) (U/L)	220,69	120,03	54,00	511,67	222,59	127,30	37,00	592,67	201,33	86,96	54,67	467,67	106,67	403,00
Glicose (mg/dL)	78,73	17,56	48,10	124,00	66,76	13,28	42,17	96,97	73,17	15,16	49,80	100,23	35,07	111,33
Coletérol (mg/dL)	173,57	68,52	73,00	290,33	244,02	90,18	106,00	440,67	249,57	102,71	111,67	464,33	89,67	442,00
Triglicéridos (mg/dL)	335,30	269,81	17,33	1005,67	362,14	228,39	49,67	799,67	340,74	232,55	45,33	829,67	44,23	1560,50
CK (U/L)	989,27	622,80	212,30	2545,23	997,77	639,96	133,00	2750,00	1049,44	647,69	219,33	2943,67	88,67	2063,00
FA (U/L)	69,82	22,14	40,00	117,67	52,09	16,12	24,67	87,00	43,66	12,38	18,33	70,33	28,67	77,33
Cálcio (mg/dL)	13,13	3,45	8,38	23,56	12,60	1,55	8,77	15,23	12,59	2,04	10,20	18,03	8,98	30,22
Fósforo (mg/dL)	5,17	3,09	2,60	14,77	4,46	2,79	1,65	13,55	5,01	2,71	2,05	10,21	2,22	11,57

TABELA 4: Comparação entre estações, Verão(V), Outono(O), Inverno (I) e Primavera, para todos os valores hematológicos e Bioquímicos do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*), modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05.
Botucatu- SP 2016

	V-O	O-I	I-P	V-P	V-I	O-P
Eritrócitos						
HB				V<P		O<P
VG						
VCM			I<P	V<P		
CHCM	V<O	O<I		V<P	V>I	O<P
Leucócitos Totais			I>P	V>P		O>P
Heterófilos	V>O		I>P	V>P	V>I	O>P
Absolutos						
Eosinófilos						
Absolutos						
Basófilos Absolutos			I<P	V<P		O<P
Linfócitos Absolutos		O<I	I>P		V<I	
Monócitos		O>I		V>P	V>I	O>P
Absolutos						
Azurófilos Absolutos	V<O		I<P	V<P	V<I	
PPT (Refratômetro)				V<P		O<P
PPT		O<I		V<P	V<I	O<P
(Espectrofotômetro)						
Ureia					V<I	
Ácido úrico		O<I	I<P	V<P	V<I	O<P
ALT(TGP)		O<I	I<P	V<P		O<P
AST(TGO)						
Glicose	V>O			V>P		
Colesterol	V<O		I>P	V<P	V<I	
Triglicerídeos				V<P		
CK			I<P	V<P		O>P
FA	V>O	O>I	I<P	V>P	V>I	
Cálcio						
Fósforo						O<P

TABELA 5: Comparação entre estações, Verão(V), Outono(O), Inverno (I) e Primavera, para os resultados hematológicos e Bioquímicos dos machos da espécie *C. carbonaria*, modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05. Botucatu- SP 2016

Machos	V-O	O-I	I-P	V-P	V-I	O-P
Eritrócitos				V>P		O>P
HB						
VG		O>I		V>P		O>P
VCM						
CHCM	V<O			V<P	V<I	
Leucócitos Totais			I>P			
Heterófilos Absolutos	V>O			V>P		
Eosinófilos Absolutos	V<O		I>P		V<I	O>P
Basófilos Absolutos				V<P		O<P
Linfócitos Absolutos			I>P		V<I	
Monócitos Absolutos				V>P	V>I	
Azurófilos Absolutos	V<O		I>P	V<P		O<P
PPT(Refratômetro)						
PPT (Espectrofotômetro)		O<I			V<I	
Ureia	V<O				V<I	
Ácido úrico		O<I	I<P	V<P	V<I	O<P
ALT(TGP)		O<I	I<P	V<P		O<P
AST(TGO)				V>P		O>P
Glicose	V>O					O<P
Colesterol	V<O		I>P		V<I	O>P
Triglicerídeos	V<O				V<I	O>P
CK			I>P	V>P		O>P
FA	V>O			V>P	V>I	
Cálcio		O>I				
Fósforo	V>O	O<I		V>P	V>I	O<P

TABELA 6: Comparação entre estações, Verão(V), Outono(O), Inverno (I) e Primavera, para os resultados hematológicos e Bioquímicos das fêmeas da espécie *C. carbonaria*, modelo estatístico misto, não houve diferença estatística significativa entre as estações correspondentes aos campos vazios, foi considerado que havia diferença significativa entre as duas estações quando o coeficiente de variação p entre as mesmas foi menor que 0,05. Botucatu- SP 2016

Fêmeas	V-O	O-I	I-P	V-P	V-I	O-P
Eritrócitos	V>O	O<I	I<P			O<P
HB		O<I	I<P	V<P		O<P
VG	V>O	O<I	I<P	V<P		O<P
VCM	V<O	O>I	I<P	V<P		
CHCM				V<P	V<I	O<P
Leucócitos Totais				V>P		
Heterófilos Absolutos			I>P	V>P	V>I	O>P
Eosinófilos Absolutos	V>O					
Basófilos Absolutos				V<P		O<P
Linfócitos Absolutos		O<I			V<I	
Monócitos Absolutos		O>I			V>I	O>P
Azurófilos Absolutos	V<O			V<P	V<I	
PPT (Refratômetro)			I<P	V<P		O<P
PPT (Espectrofotômetro)		O<I	I<P	V<P		O<P
Ureia				V<P		O<P
Ácido úrico		O<I		V<P	V<I	O<P
ALT(TGP)		O<I	I<P	V<P		O<P
AST(TGO)						
Glicose			I>P	V>P		O>P
Colesterol	V<O			V<P	V<I	
Triglicerídeos			I<P	V<P		O<P
CK			I>P			
FA	V>O	O>I		V>P	V>I	
Cálcio			I<P	V<P		O<P
Fósforo						O<P

TABELA 7: Comparação estatística entre os sexos dos resultados do eritrograma. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes. Botucatu SP 2016

	Janero	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Eritrócitos ($\times 10^8$ cell/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	0,56	0,49	0,48	0,48	0,42	0,43	0,49	0,51	0,50	0,51	0,52	0,50
Médias Machos (n=15)	0,61	0,56	0,54	0,58	0,56	0,58	0,55	0,55	0,52	0,53	0,51	0,54
P	0,144	0,051	0,071	0,001	0,000	0,000	0,016	0,127	0,189	0,449	0,816	0,280
HB (g/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	5,90	5,62	5,31	5,38	5,21	5,18	5,58	5,73	6,26	6,32	6,65	6,41
Médias Machos (n=15)	6,57	6,25	6,37	6,72	6,41	6,63	6,07	6,32	6,79	6,48	6,08	6,82
P	0,042	0,126	0,012	0,000	0,001	0,001	0,067	0,120	0,115	0,642	0,105	0,277
VG (%)												
Médias Fêmeas (n=14)	24,07	24,00	22,71	22,57	21,71	20,79	23,00	23,86	23,50	25,54	26,21	25,57
Médias Machos (n=15)	28,43	27,43	27,43	27,80	27,93	27,53	26,07	27,13	25,53	26,13	26,13	26,86
P	0,002	0,040	0,001	0,000	0,000	0,000	0,004	0,014	0,053	0,559	0,949	0,310
VCM (fL)												
Médias Fêmeas (n=14)	433,82	487,22	479,96	476,91	515,30	488,26	475,73	468,11	475,02	497,75	505,34	515,05
Médias Machos (n=15)	467,28	492,79	511,83	485,48	502,02	477,85	479,00	492,87	492,75	497,84	509,59	503,55
P	0,036	0,734	0,143	0,610	0,491	0,589	0,868	0,107	0,310	0,995	0,788	0,517
CHCM (g/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	24,56	23,52	23,33	23,85	24,09	25,00	24,34	23,98	26,68	24,75	25,42	25,08
Médias Machos (n=15)	23,10	22,64	23,13	24,16	22,87	23,94	23,28	23,22	26,56	24,69	23,22	25,32
P	0,021	0,227	0,804	0,574	0,051	0,223	0,138	0,260	0,871	0,933	0,002	0,710

TABELA 8: Comparação estatística entre os sexos dos resultados do Leucograma e da contagem estimada de Trombócitos. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes quando os resultados de ambos os sexos atingiram uma distribuição normal. Quando esta não foi atingida foi utilizado o teste de Mann Whitney para calcular o P (*), Botucatu SP 2016

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Leucócitos Totais (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	9171	9093	10257	9636	9100	8421	9621	9057	8035	8446	8192	7993
Médias Machos (n=15)	8521	8293	8693	8860	8300	8873	10000	8906	8726	7740	7660	7164
P	0,394	0,289	0,107	0,375	0,344	0,600	0,736	0,821	0,464	0,361	0,459	0,349
Heterófilos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	4266	3799	4561	3544	3982	3573	3845	3413	2962	2581	2808	2913
Médias Machos (n=15)	4902	3919	4459	3469	3999	3272	4591	3028	3892	2791	3114	2572
P	0,332	0,862	0,867	0,875	0,974	0,610	0,378	0,412	0,101	0,719	0,459	0,568
Eosinófilos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	1377	1135	1285	1221	956	591	590	614	517	665	670	894
Médias Machos (n=15)	433	419	383	836	999	946	792	1059	1010	647	581	510
P	0,008*	0,015*	0,000	0,252	0,910	0,249	0,373	0,098	0,084	0,926	0,628	0,083
Basófilos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	771	811	983	887	773	828	808	921	938	997	1018	1117
Médias Machos (n=15)	759	713	837	904	697	630	835	696	827	839	1003	924
P	0,952	0,602	0,590	0,942	0,690	0,229	0,889	0,281	0,611	0,379	0,946	0,438
Linfócitos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	2089	2967	3019	3353	2703	2911	3880	3720	3237	3871	3176	2719
Médias Machos (n=15)	1836	2923	2655	3242	2193	3559	3308	3846	2705	3051	2398	2613
P	0,559	0,935	0,525	0,861	0,338	0,212	0,428	0,821	0,393	0,145	0,092	0,820
Monócitos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	609	287	182	559	438	91	195	144	188	145	100	173
Médias Machos (n=15)	490	223	154	272	166	137	187	188	84	147	167	219
P	0,651	0,589	0,557	0,036	0,002	0,260	0,896	0,421	0,006	0,975	0,168	0,466
Azurófilos Absolutos (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	59	94	229	73	249	429	303	247	193	187	420	177
Médias Machos (n=15)	102	96	205	137	247	329	287	89	209	265	398	326
P	0,098	0,952	0,663	0,053	0,981	0,330	0,892	0,001	0,802	0,210	0,854	0,014
Trombócitos estimados (cel/μL)												
Médias Fêmeas (n=14)	11871	12171	10600	11900	9540	9175	6200	7071	5575	9025	7550	8900
Médias Machos (n=15)	10456	8440	10270	9978	8988	9778	6075	8863	6509	7970	8146	7566
P	0,563	0,197	0,729	0,158	0,592	0,631	0,925	0,178	0,353	0,465	0,778	0,442

* Resultados não paramétricos comparados pelo teste de Mann Whitney

TABELA 9: Comparação estatística entre os sexos dos resultados dos Exames Bioquímicos. Estão representadas as médias mensais de cada sexo e o coeficiente de variação P entre os sexos para cada momento analisado, houve diferença significativa entre os sexos quando $P < 0,05$ (resultados em vermelho). O P foi calculado pelo teste T para amostras independentes quando os resultados de ambos os sexos atingiram uma distribuição normal. Quando esta não foi atingida foi utilizado o teste de Mann Whitney para calcular o P(*), Botucatu SP 2016

	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
PPT (g/dL) (Refratômetro)												
Médias Fêmeas (n=14)	5,31	4,56	4,46	4,33	4,26	4,42	4,47	4,77	5,00	5,35	5,60	5,41
Médias Machos (n=15)	5,17	4,73	4,83	5,16	5,11	5,21	5,17	5,31	5,28	5,36	5,17	4,99
P	0,717	0,567	0,283	0,009	0,020	0,038	0,025	0,079	0,334	0,985	0,319	0,307
PPT (g/dL) (Espectrofotômetro)												
Médias Fêmeas (n=14)	3,94	3,64	3,57	3,54	3,50	3,56	3,87	4,14	4,05	4,50	4,44	4,21
Médias Machos (n=15)	4,79	4,51	4,56	4,47	4,59	4,74	4,90	5,09	4,94	5,07	4,73	4,73
P	0,011	0,002	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,042	0,394	0,127
Ureia (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	15,21	21,27	17,19	15,54	19,21	15,04	17,48	22,93	21,51	21,83	23,93	28,80
Médias Machos (n=15)	17,07	24,34	22,48	24,19	37,33	39,55	37,18	31,35	29,64	31,09	25,54	19,79
P	0,703	0,425	0,161	0,010	0,001	0,000	0,000	0,161	0,122	0,097	0,660	0,010
Ácido úrico (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	0,86	0,76	0,68	0,66	0,71	0,72	4,19	2,06	2,11	2,11	3,26	3,19
Médias Machos (n=15)	0,83	0,91	0,92	0,95	0,88	0,85	1,02	2,37	2,05	2,03	2,79	2,89
P	0,762	0,239	0,083	0,005	0,163	0,293	0,000	0,019	0,635	0,650	0,001	0,019
ALT (TGP)(U/L)												
Médias Fêmeas (n=14)	8,21	6,50	7,29	5,71	8,43	4,00	12,21	8,86	11,00	17,69	16,57	11,64
Médias Machos (n=15)	14,21	8,64	14,71	13,60	7,93	4,33	15,40	13,20	18,07	26,13	25,60	15,64
P	0,078	0,389	0,135	0,128	0,082	0,272	0,171	0,003	0,001	0,095	0,070	0,259
AST (TGO) (U/L)												
Médias Fêmeas (n=14)	178,07	182,93	168,71	157,57	161,71	160,93	164,21	156,93	168,43	188,23	184,29	158,14
Médias Machos (n=15)	243,07	254,36	297,00	336,40	262,60	243,80	242,20	238,13	230,47	235,40	209,27	181,07
P	0,150	0,118	0,016	0,003	0,022	0,035	0,022	0,028	0,064	0,147	0,460	0,442
Glicose (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	66,79	70,15	71,83	69,77	72,21	60,79	73,05	74,87	59,52	56,45	51,81	51,15
Médias Machos (n=15)	102,67	85,51	75,41	67,48	65,08	65,40	74,87	79,24	76,65	91,56	80,73	86,01
P	0,000	0,051	0,039	0,024	0,440	0,554	0,060	0,743	0,098	0,003	0,000	0,001

(continua na próxima página)

TABELA 9 (continuação)

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Colesterol (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	202,36	201,21	269,07	290,57	282,79	295,50	303,07	307,43	310,86	327,77	313,64	275,43
Médias Machos (n=15)	109,14	115,57	144,07	190,53	204,40	209,47	198,00	200,87	188,73	156,67	131,27	112,86
<i>P</i>	0,000	0,000	0,000	0,002	0,020	0,012	0,003	0,004	0,002	0,000	0,000	0,000
Triglicerídeos (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	615,93	566,43	572,43	525,79	436,86	415,36	455,36	433,79	588,79	730,77	780,00	827,00
Médias Machos (n=15)	59,21	78,64	119,14	288,93	246,53	278,80	187,80	233,73	175,33	152,20	98,27	76,43
<i>P</i>	0,000	0,000	0,000	0,011	0,031	0,119	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000*
CK (U/L)												
Médias Fêmeas (n=14)	722,66	679,54	899,99*	820,50	910,50	934,86	1213,07	1153,07	863,50	573,08	463,00	629,93
Médias Machos (n=15)	962,71	957,31	1593,42*	1048,47	1301,60	948,87	1250,53	816,93	989,29	751,07	641,13	515,21
<i>P</i>	0,364	0,152	0,060	0,408	0,128	0,953	0,925	0,244	0,616	0,398	0,290	0,641
FA (U/L)												
Médias Fêmeas (n=14)	78,79	83,00	79,57	80,79	48,50	46,79	46,43	48,93	47,36	54,38	55,36	55,50
Médias Machos (n=15)	62,07	59,86	55,64	63,40	37,47	36,93	40,53	39,60	39,87	48,07	41,47	41,14
<i>P</i>	0,030	0,009	0,006	0,056	0,016	0,055	0,181	0,083	0,136	0,323	0,034	0,018
Cálcio (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	18,41	11,65	11,74	13,76	12,71	11,85	14,34	12,51	13,83	15,31	19,74	16,62
Médias Machos (n=15)	12,74	12,12	12,14	12,07	12,67	12,58	12,56	11,37	11,11	11,21	11,99	11,45
<i>P</i>	0,056	0,724	0,644	0,056	0,961	0,292	0,025	0,132	0,026	0,025	0,043	0,017
Fósforo (mg/dL)												
Médias Fêmeas (n=14)	8,11	5,29	7,21	-	6,35	6,23	7,97	6,68	7,26	7,04	6,13	5,62
Médias Machos (n=15)	3,91	3,36	3,14	-	2,93	2,57	2,91	2,82	2,89	3,23	2,91	2,88
<i>P</i>	0,092	0,000	0,001*	-	0,001	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001

*: Coeficiente de variação *P* calculado pelo Teste de Mann Whitney

-: Resultados fora do padrão, excluídos da análise geral.

5.5. Eritrograma

O teste de normalidade foi aplicado para todas as variáveis eritrocitárias em todos os momentos de análise, como mostrado na tabela 2. Se observarmos os resultados é possível notar que todas as variáveis tiveram resultados de p acima de 0,05, o que significa que todas possuem distribuição normal, ou seja, possuem uma variação confiável segundo este teste estatístico.

Se analisarmos os resultados segundo cada estação do ano, podemos observar que as variáveis Eritrócitos($0,509 \times 10^6$ cel/ μ L), Hb(5,94 g/dL) e VG(24,83 %) possuem seus valores mais baixos no outono enquanto a média mais alta fica no verão(ou na primavera(Eritrocitos $0,519 \times 0,509 \times 10^6$ cel/ μ L; Hb: 6,44 g/dL; VG: 26,02 %). (Tabela 3).

Segundo a análise estatística por estação, os resultados de concentração de hemoglobina (Hb) na primavera (6,44g/dL) foram significativamente maiores que os resultados no verão (6,00 g/dL) e no outono (5,94 g/dL) (Tabela 4). Outras variáveis eritrocitárias que demonstraram diferenças significativas foram o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os resultados do VCM na primavera foram significativamente maiores que os resultados no verão e no inverno. Já o CHCM foi o parâmetro eritrocitário que mais variou entre as estações. Houve diferenças significativas desta variável entre o verão e o outono (resultados do outono mais altos que resultados do verão); entre o outono e o inverno (resultados do inverno mais altos que resultados do outono); entre a o verão e a primavera (resultados da primavera mais altos que resultados do verão), entre inverno e o verão (resultados do inverno mais altos que os resultados do verão) e entre o outono e a primavera (resultados da primavera mais altos que os resultados do outono) (Tabela 4).

Analisando-se a variação das médias de machos e fêmeas na contagem total de hemácias, na concentração de hemoglobina e no volume globular ao longo dos 12 meses, representas nas figuras 6, 7 e 8, é possível observar que os três parâmetros parecem variar de forma semelhante: a média de valores das fêmeas inicia o ano com valores consideravelmente mais baixos que os machos; tal diferença aumenta até metade do ano e posteriormente as fêmeas

começam a ter médias mais altas destas variáveis, diminuindo assim a diferença. Em novembro a diferença entre as médias quase nula para a contagem total de hemácias ($0,514 \times 10^6/\mu\text{L}$ Machos(M); $0,519 \times 10^6/\mu\text{L}$ Fêmeas(F)) e para o volume globular (26,13% M; 26,21% F). Enquanto na concentração de hemoglobina houve uma inversão neste mês, e as fêmeas apresentaram uma maior média do que os machos (6,08 g/dL M; 6,65 g/dL F).

Fêmeas apresentaram mais variações significativas entre as estações do que os machos, este sexo apresentou seu maiores valores do eritrograma na primavera. Os machos também apresentaram variações significativas, apresentaram seus menores de contagem de eritrócitos e hematócrito na primavera. (Tabela 5 e 6)

Segundo o teste T para amostras independentes e as fêmeas tiveram valores significativamente mais baixos ($p < 0,05$) de Volume Globular (VG) em todos os meses de análise, exceto nos últimos quatro meses do ano (Setembro a Dezembro). Algo semelhante ocorreu para os resultados de concentração de hemoglobina (Hb). As fêmeas tiveram resultados significativamente menores que os machos para este parâmetro entre nos meses de janeiro e nos meses de março a junho. Fêmeas também demonstraram um valor contagem total de hemácias (Eritrócitos) mais baixo que os machos em fevereiro e entre os meses de Abril e Julho. Machos tiveram resultados de VCM maiores que as Fêmeas no mês de Janeiro, enquanto fêmeas tiveram resultado de CHCM maiores que os machos nos meses de janeiro e novembro (Tabela 7).

No que diz respeito à variação durante o ano é possível notar que esta é maior nas fêmeas para todas as variáveis referentes ao Eritrograma.

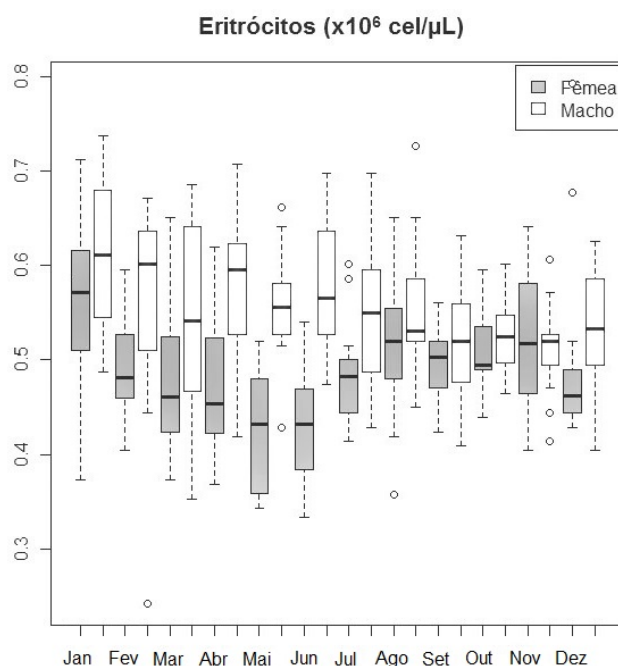


FIGURA 6: Variação da contagem total de eritrócitos (Eritrócitos) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.

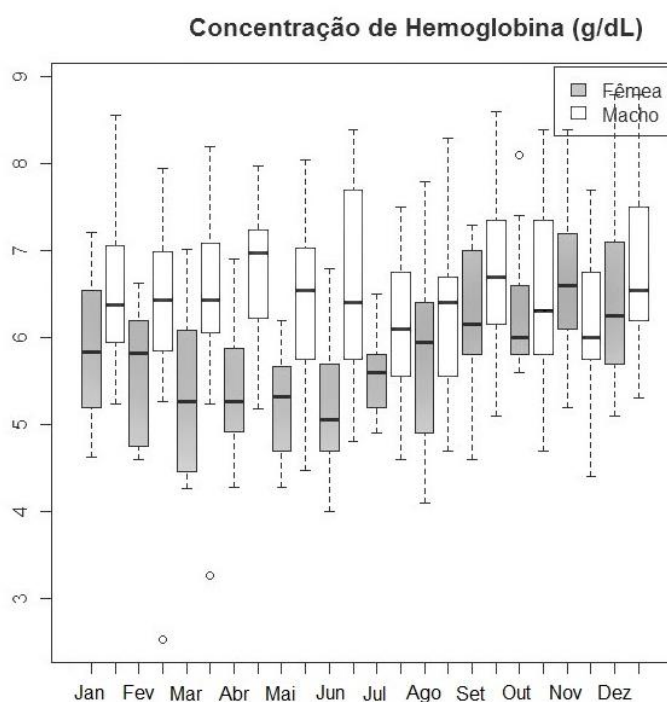


FIGURA 7: Variação da Concentração de Hemoglobina (Hb) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.

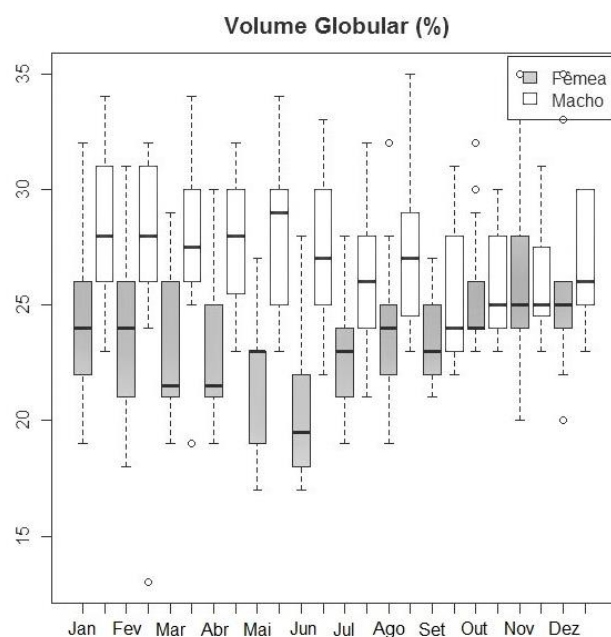


FIGURA 8: Variação do Volume Globular (VG) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.

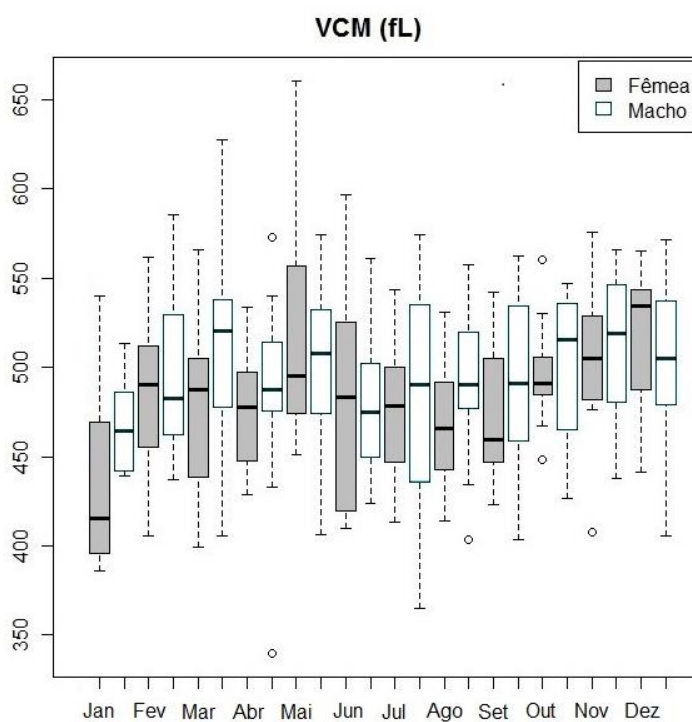


FIGURA 9: Variação do Volume Corpuscular Médio(VCM) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.

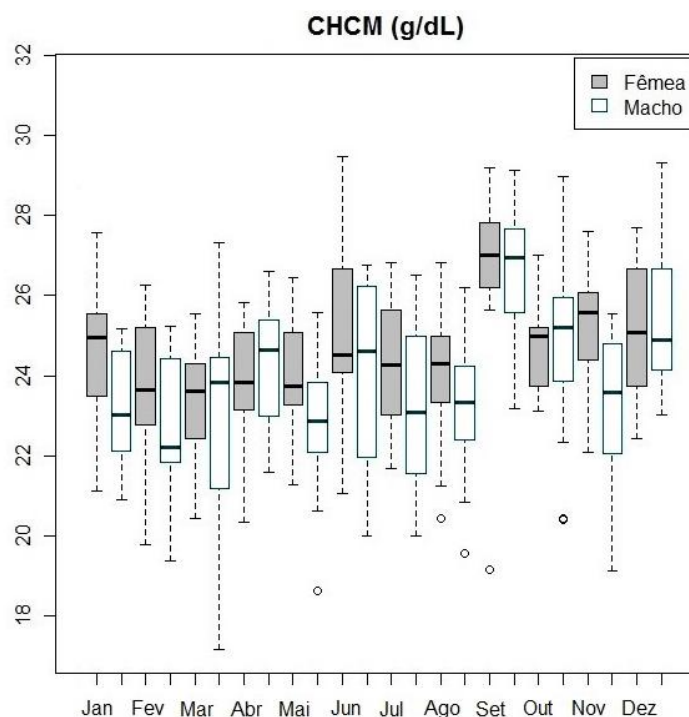


FIGURA 10: Variação da Concentração de Hemoglobina Corpuscular média (CHCM) do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016.

5.6. Leucograma

Os leucócitos também foram submetidos ao mesmo teste de normalidade como podemos observar na tabela 2. Nota-se que na maioria das aferições, os resultados de leucócitos totais e de heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e azurófilos absolutos atingiram uma distribuição normal ($p > 0,05$); ou seja, a grande maioria destes resultados é confiável segundo a análise estatística.

Observando os resultados do diferencial e leucócitos (Tabela 1), é possível notar que a célula mais predominante do diferencial é o heterófilo (média: 3595,13 cel/ μ L) e a segunda mais predominante é o linfócito (média: 2997,31 cel/ μ L). Estas também foram as células que apresentaram o maior intervalo (928-10835 cel/ μ L e 63-8385 cel/ μ L respectivamente) e o maior desvio padrão (1646,66 e 1516,20 respectivamente)

Se os resultados forem agrupados por estação pode-se observar que houve uma queda considerável no valor de Leucócitos totais entre o inverno e a primavera. Esta queda se também ocorreu nas médias dos resultados

absolutos de dois tipos de leucócitos, heterófilos e linfócitos (Tabela 3). A análise estatística revelou que estas quedas nos resultados dos leucócitos foram significativas, já que há diferenças significativas entre os resultados de leucócitos totais, de heterófilos, e de linfócitos entre estas duas estações. Porém entre estas estações também ocorreu um aumento significativo nos resultados absolutos dos basófilos e azurófilos (Tabela 4).

Os Leucócitos totais também demonstraram diferenças significativas entre o verão e a primavera, sendo que os resultados do verão são significativamente maiores que os resultados da primavera. O mesmo ocorreu para os resultados absolutos de heterófilos, linfócitos e monócitos. Porém a análise estática também revelou que os resultados de basófilos e azurófilos foram significativamente maiores na primavera em relação ao verão (Tabela 4).

Também houve diferenças significativas entre o outono e a primavera para os resultados de leucócitos totais, heterófilos absolutos e monócitos absolutos, os quais foram significativamente maiores no outono em relação à primavera. Enquanto os resultados de Basófilos absolutos foram maiores na primavera em relação ao outono (Tabela 4)

Heterófilos e azurófilos demonstraram diferenças significativas entre os resultados do verão e do outono, sendo que para os heterófilos os resultados do verão foram maiores que os do outono, enquanto para os azurófilos ocorreu o contrário. (Tabela 4)

Alguns tipos de leucócitos também demonstraram diferenças significativas entre o verão e o inverno: os resultados de heterófilos e monócitos foram significativamente maiores no verão; enquanto os resultados de linfócitos e azurófilos foram significativamente maiores no inverno (Tabela 4).

Ambos os sexos apresentaram semelhante entre as estações para todos os resultados do leucograma, exceto nos resultados dos eosinófilos onde machos apresentaram mais variações entre as estações do que as fêmeas (Tabelas 5 e 6)

Segundo o teste T para amostras independentes e o Teste de Mann Whitney , não houve diferença significativa entre os sexos nos resultados de leucócitos totais em todos os meses de análise (Tabela 8). Apesar de haver

uma grande variação nos resultados desta variável, para ambos os sexos ao longo do ano, como pode ser observado na figura 11 e comprovado pelo alto desvio padrão geral: 2283,66 cel/ μ L (Tabela 1)

Porém segundo os mesmos testes, houve algumas diferenças significativas nos resultados de alguns tipos específicos de leucócitos: houve diferença significativa entre os sexos para os valores de eosinófilos, nos meses de janeiro, fevereiro e março. Nestes meses as fêmeas apresentam médias maiores que os machos para esta variável. Houve diferenças significativas entre machos e fêmeas para os valores de monócitos nos meses de abril, maio e setembro. Nos três casos, fêmeas apresentaram médias maiores que os machos. Houve diferenças significativas entre os sexos em dois momentos para os valores absolutos de azurófilos: em agosto fêmeas apresentaram valores significativamente mais altos que os machos e em dezembro ocorreu o contrário (Tabela 8)

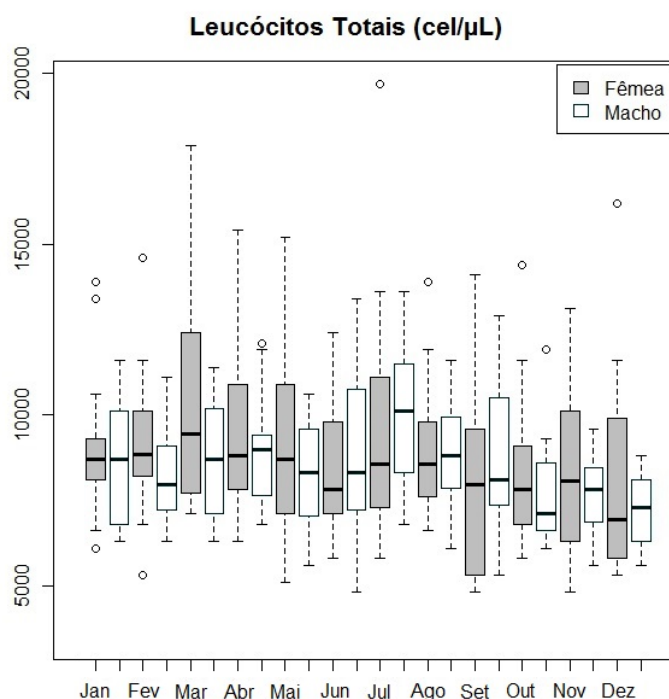


FIGURA 11: Variação dos Leucócitos totais dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

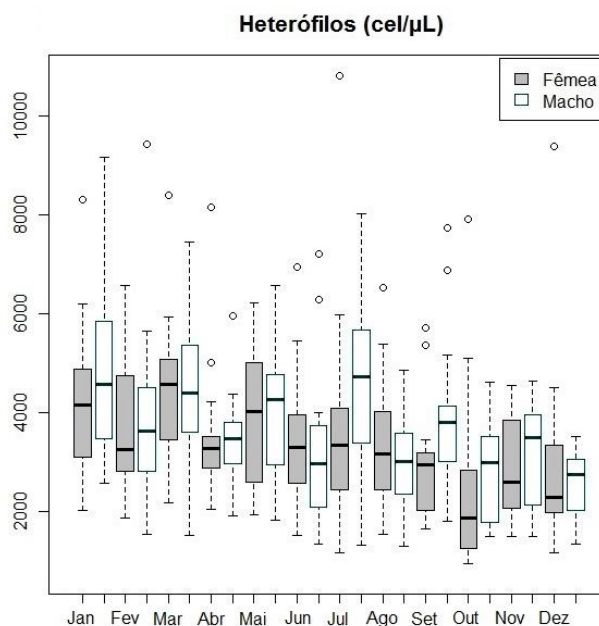


FIGURA 12: Variação dos Heterófilos absolutos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

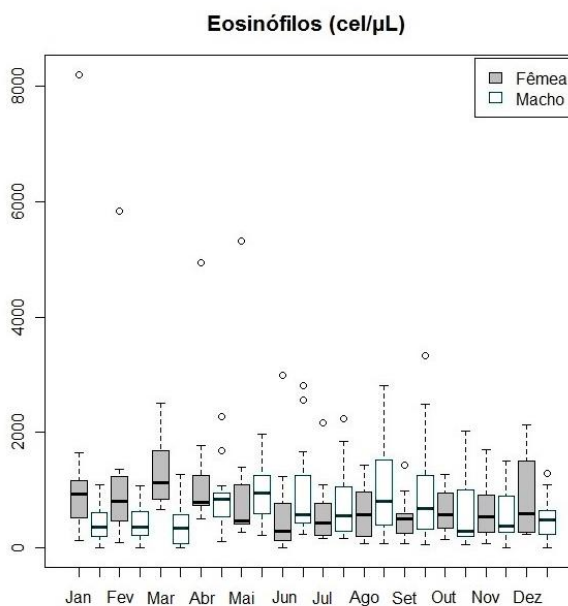


FIGURA 13: Variação dos Eosinófilos absolutos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

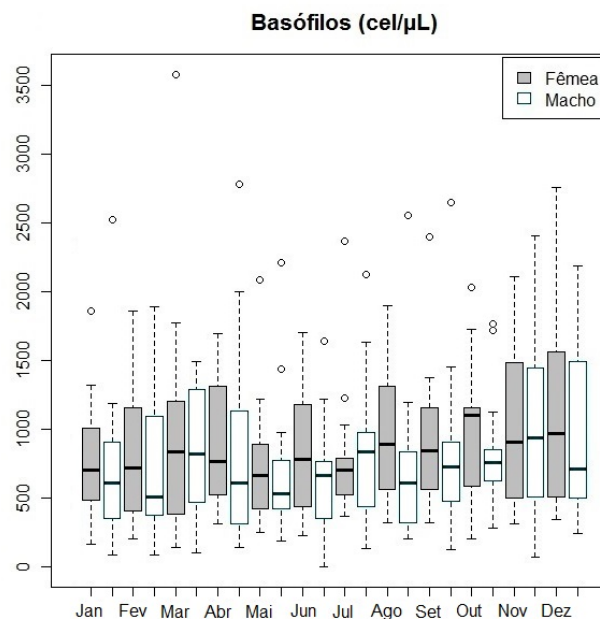


FIGURA 14: Variação dos Basófilos absolutos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

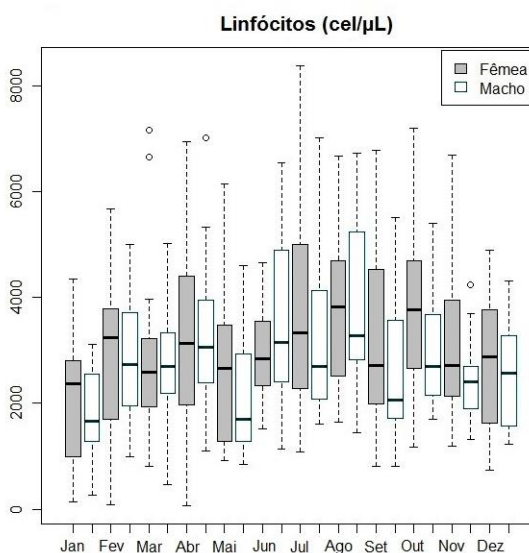


FIGURA 15: Variação dos Linfócitos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

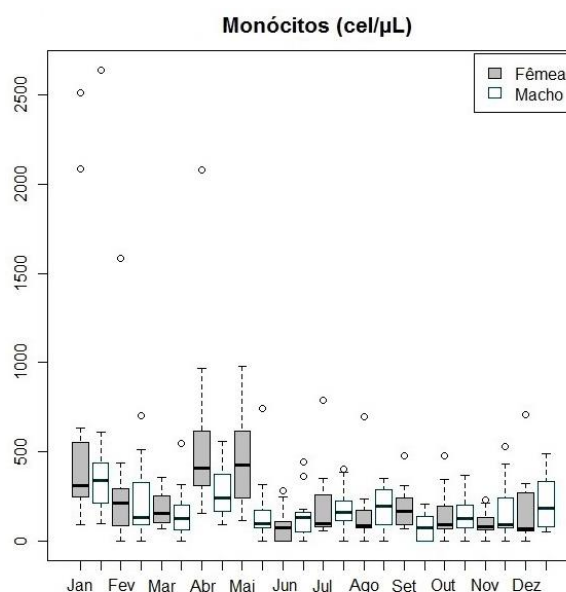


FIGURA 16: Variação dos Monócitos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

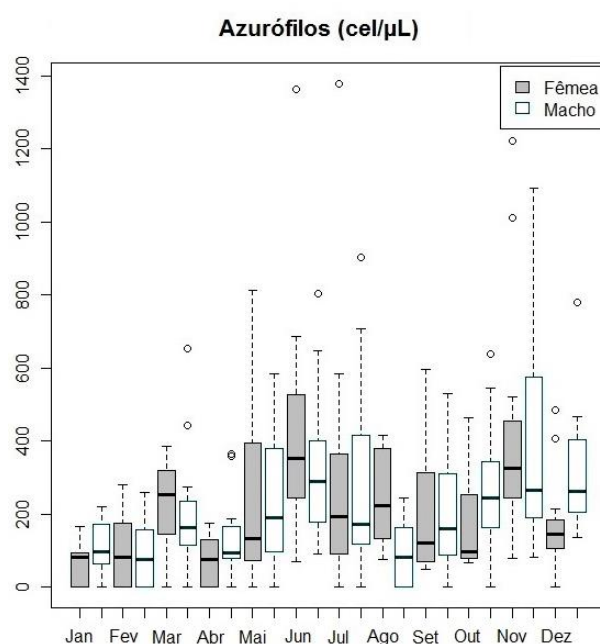


FIGURA 17: Variação dos Monócitos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

5.7. Contagem Estimada de Trombócitos

Apesar da impossibilidade de mensuração dos trombócitos em muitas amostras devido a presença de agregação nas lamínas de esfregaço, podemos observar que em todos os momentos de análise os resultados desta célula obtiveram uma distribuição normal ($p>0,05$) (Tabela 2)

Analizando a variação das médias dos trombócitos ao longo das estações (Tabela 3), e ao longo do ano (Figura 18) para ambos os sexos, é possível notar que aparentemente estas células não apresentam um padrão de variação definido durante o ano; portanto é provável que sua variação sazonal não seja significativamente relevante.

Segundo o Teste T, não houve diferenças significativas entre os sexos para os resultados de Trombócitos em todos os momentos de análise (tabela 6).

Porém não foi possível realizar mais testes estáticos além da verificação da distribuição normal nos valores de trombócitos devido à alta quantidade de amostras onde não foi possível fazer uma estimativa destas células, devido à presença de agregação.

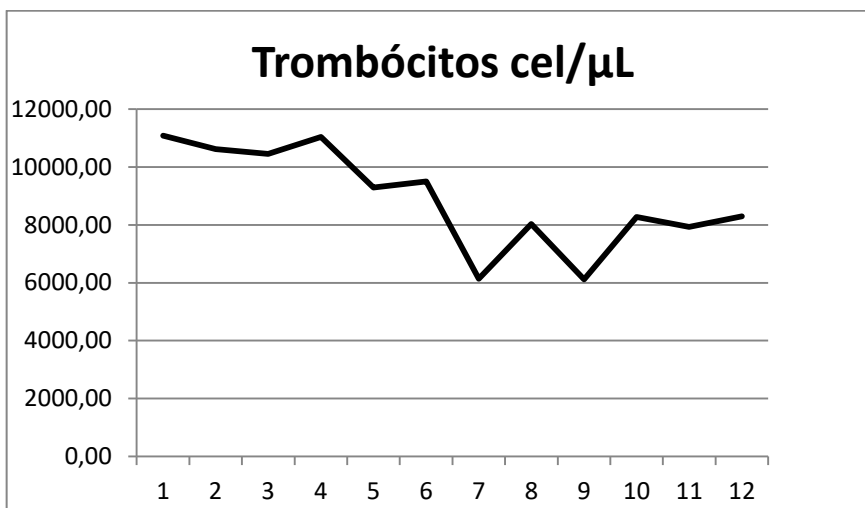


FIGURA 18: Variação das médias mensais dos Trombócitos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise sem discriminação entre os sexos. Botucatu 2016

5.8. Proteína Plasmática Total: Refratometria e Espectrofotometria

Observando a Tabela 2 é possível notar que, com exceção dos resultados de janeiro, as aferições da proteína plasmática mensuradas pelo refratômetro tiveram resultados dentro dos padrões de normalidade ($p>0,05$). Em todos os momentos de análise os resultados da proteína plasmática aferida pelo espectrofotômetro obtiveram resultados dentro dos padrões de normalidade ($p>0,05$)

Analisando a variação de ambos os sexos ao longo do ano (Tabela 1), nota-se que a proteína plasmática (refratometria) não variou muito em números absolutos (Desvio padrão geral: 0,96 - Tabela 1).

Analisando a proteína plasmática (refratometria) por estação, é possível notar que as maiores médias se encontram no inverno e na primavera (5,01 g/dL e 5,34 g/dL respectivamente) e a menor média é a do outono (4,76 g/dL) (Tabela 3).

Segundo a análise estatística os resultados da proteína plasmática (refratometria) foram significativamente maiores na primavera em relação ao verão e em relação ao outono (Tabela 4).

Segundo o teste T, que avalia se existem diferenças significativas entre os sexos, fêmeas tiveram resultados significativamente mais baixos que os machos nos meses de abril, maio, junho e julho, para a proteína plasmática aferida no refratômetro (Tabela 9).

A análise da proteína plasmática realizada no espectrofotômetro apresentou uma variação semelhante à do refratômetro, porém as médias dos resultados da espectrofotometria tenderam a ser mais baixos que as da refratometria (Tabela 3).

Além disso, na análise estatística estes resultados deste método demonstraram diferenças entre o outono e o inverno (resultados do outono menores que resultados do inverno), entre a primavera e o verão (resultados da primavera maiores que resultados do verão), entre verão e inverno (resultados do verão menores que resultados do inverno) e entre o outono e a

primavera (resultados da primavera do outono menores que resultados da primavera)(Tabela 4).

Os dois sexos variaram de forma semelhante no que diz respeito a variação da proteína plasmática ao longo ano, ambos apresentaram seus maiores valores a partir da segunda metade do período de análise , machos apresentaram seus maiores valores no inverno enquanto nas fêmeas isso ocorreu na primavera (Tabelas 5 e 6)

Segundo o teste T machos apresentam resultados de proteína plasmática total (espectrofotometria) foram significativamente mais altos que as fêmeas durante todos os meses do ano; exceto nos meses de novembro e dezembro onde não há diferenças significativas entre os sexos (Tabela 9).

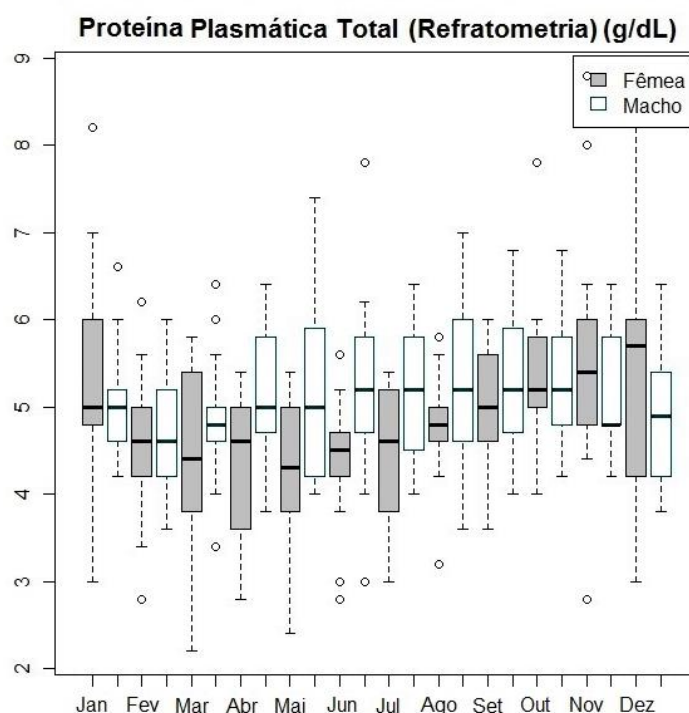


FIGURA 19: Variação da Proteína Plasmática Total aferida por refratometria dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

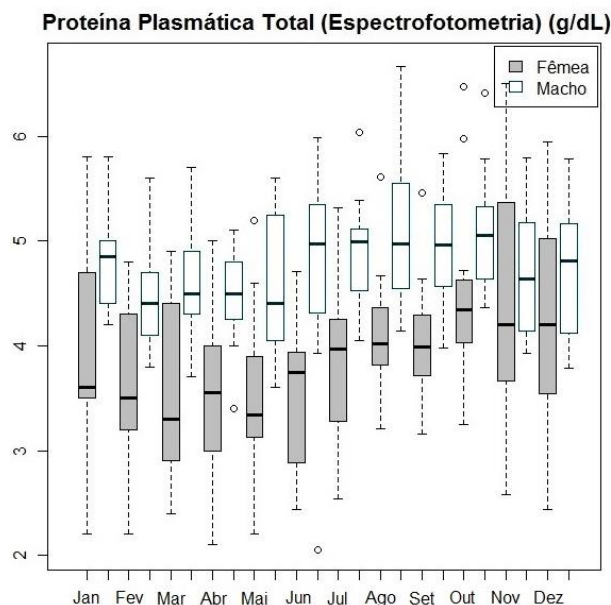


FIGURA 20: Variação da Proteína Plasmática Total aferida por espectrofotometria dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.9. Avaliação do sistema Renal- Ureia e Ácido Úrico

Os resultados das aferições do ácido úrico e da ureia obtiveram variação normal para a maioria dos meses de estudo ($p > 0,05$), ou seja, a maioria dos resultados é confiável (Tabela 2).

Analisando a variação por estação do ano é possível notar que o ácido úrico, apesar de ter uma concentração consideravelmente menor que a ureia, apresentou uma variação muito maior entre as estações. Por exemplo, do outono para o inverno esta variável passou de uma média de 0,8 mg/dl para 2,28 mg/dl, enquanto a ureia se manteve com uma variação relativamente baixa (variação entre as médias da estação), apresentando 19,59 mg/dl no verão e 26,89 mg/dl no inverno, mesmo assim os valores mais altos desta variável tenderam a ocorrer no meio do ano, nas estações de outono e inverno (Tabela 3).

Segundo a análise estatística os resultados da ureia foram significativamente mais altos no verão em relação ao inverno. Os resultados do ácido úrico foram significativamente mais altos no inverno em relação ao

outono, na primavera em relação ao inverno, no inverno em relação ao verão e na primavera em relação ao outono. (Tabela 4)

Individualmente os dois sexos apresentaram variações semelhantes a variação geral para os resultados de ureia e ácido úrico, os maiores resultados ocorreram na segunda metade do período de análise, no inverno ou na primavera (tabela 5 e 6)

Analisando a variação mensal é possível notar que ambos os parâmetros, aumentam sua média geral bruscamente no meio no ano e que estas tendem a ficar altas até o final do ano. O aumento da ureia ocorre mais cedo, entre abril e maio (médias 20,02 mg/dL abril, 28,59 mg/dL maio)(Figura 21) enquanto o aumento do ácido úrico ocorre entre junho e julho(médias:0,79 mg/dL junho 2,55 mg/dL julho)(Figura 21). É justamente entre estes meses que estas variáveis demonstram variação significativa segundo a análise estatística. O ácido úrico volta a aumentar significativamente entre os meses de outubro e novembro (médias 2,07 mg/dL outubro, 3,01 mg/dL novembro)(Figura 22)

Machos tendem a ter médias mais altas de ureia do que as fêmeas. Esta diferença é mais pronunciada entre os meses de abril e agosto, sendo que é neste período que ocorrem diferenças estatisticamente significativas entre os sexos (Tabela 9)

No ácido úrico machos e fêmeas apresentaram diferenças significativas nos meses de Abril, Julho, Agosto, Novembro e Dezembro. Em três desses momentos as fêmeas apresentaram médias maiores que os machos, Julho, Novembro e Dezembro, nos outros meses ocorreu o contrário. As médias se apresentaram particularmente discrepantes no mês de Julho onde as fêmeas tiveram uma média muito maior que os machos (Tabela 9).

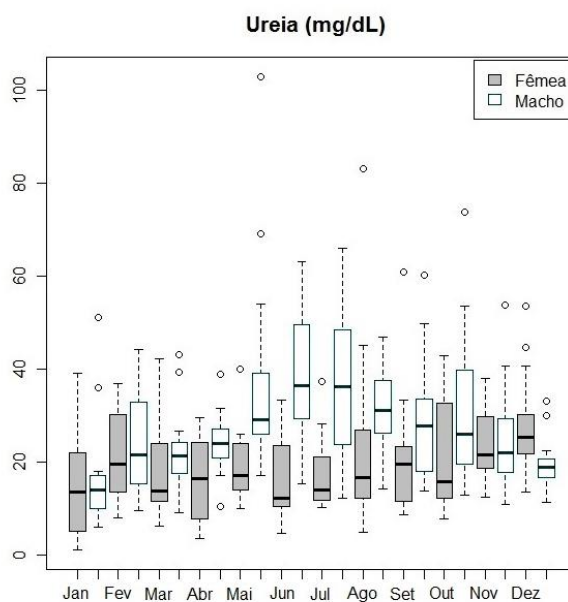


FIGURA 21: Variação da Ureia dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

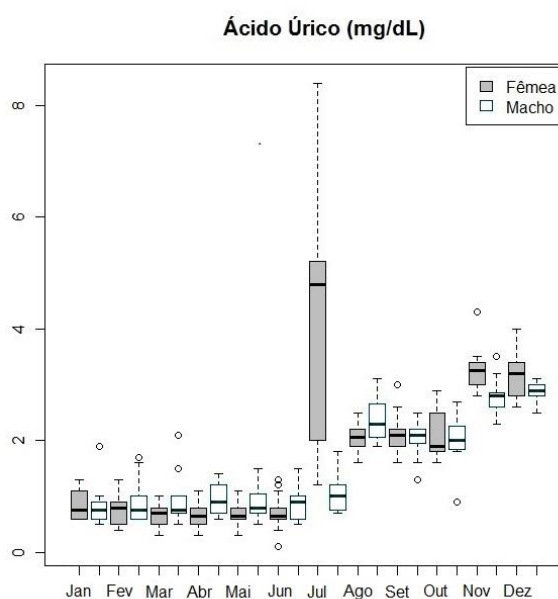


FIGURA 22: Variação do Ácido Úrico dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.10. Avaliação do metabolismo Hepático- Aspartato aminotransferase (ALT) e Alanina aminotransferase (AST)

Apenas em um dos momentos de análise os resultados da AST não atingiram uma variação normal ($p < 0,05$), enquanto os resultados a ALT não apresentaram variação normal em três meses de análise. Ou seja, a maioria desses resultados é confiável estaticamente (Tabela 2).

A AST apresentou médias mais altas no verão e no outono e a ALT apresentou médias mais altas no inverno e na primavera. No entanto nenhuma das médias das atividades das enzimas variou muito em números absolutos: AST variou entre 192,04 UI/L na primavera e 222, 59 UI/L no outono; a ALT variou entre 7,38 UI/L no outono e 19, 34 UI/L na primavera (Tabela 3).

Considerando a variação mensal é possível notar que ambas as enzimas não variam muito em números absolutos: o desvio padrão da ALT foi de 11,23 UI/L e o da AST foi de 112, 09 UI/L (Tabela 1). Porém a AST tendeu a ter médias mais baixas nos meses finais de análise (outubro a dezembro), enquanto as médias da ALT tenderam a ficar mais altas no mesmo período (Figuras 23 e 24)

A ALT apresentou resultados significativamente mais altos na primavera em comparação a todas as outras estações. Além disso, os resultados do inverno foram significativamente mais altos que o outono. Isso ocorreu tanto na análise variação sazonal geral quanto na análise da variação sazonal de cada um dos sexos (Tabelas 4, 5 e 6)

Somente machos tiveram variações significativas entre as estações para os resultados de AST, apresentando resultados mais baixos na primavera em relação ao verão e ao outono (Tabela 5)

Analisando machos e fêmeas separadamente é possível notar que os machos tiveram médias mais altas de ALT em todos os meses de análise (Figura 23), porém esta diferença entre os sexos só é significativa (segundo os testes estatísticos) nos meses de agosto e setembro (Tabela 9). Machos sempre obtiveram resultados de AST maiores que as fêmeas (Figura 24), porém segundo o teste T (Tabela 9) esta diferença entre os sexos só é significativa entre os meses de março e agosto.

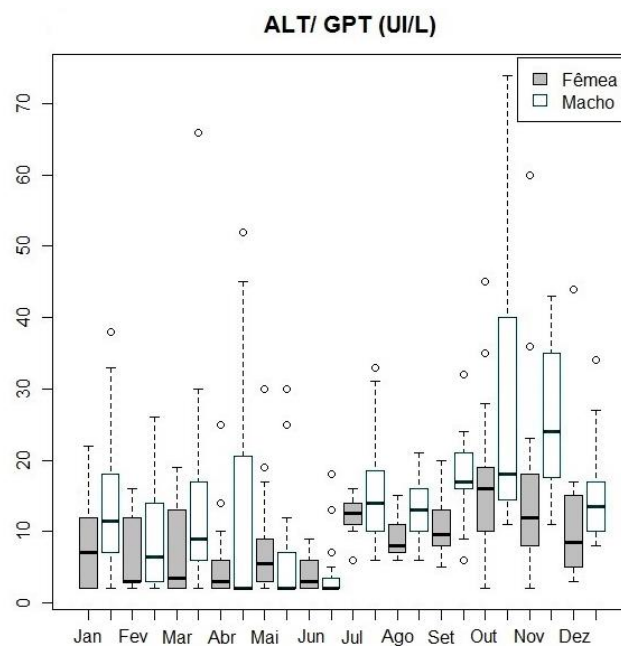


FIGURA 23: Variação da ALT/TGP dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

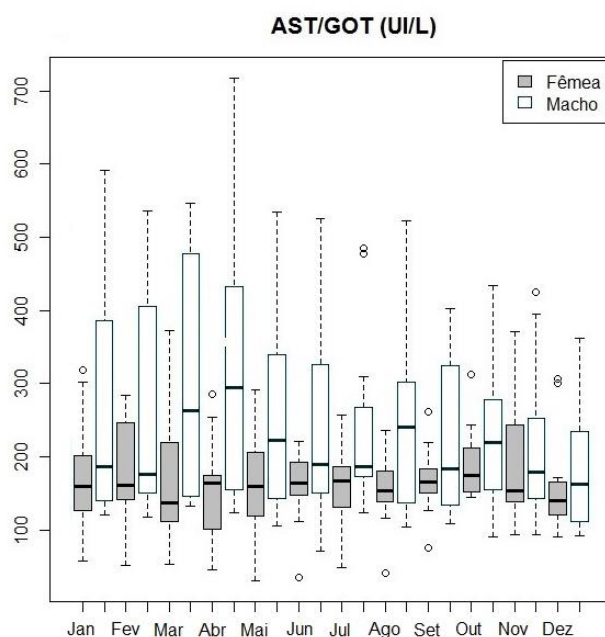


FIGURA 24: Variação da AST/TGO dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.11. Avaliação do Metabolismo Energético- Glicose, Colesterol e Triglicerídeos.

Em todos os momentos de análise as concentrações plasmáticas de glicose, colesterol e triglicerídeos apresentaram variação normal ($p>0,05$), ou seja: todos os resultados dessas variáveis são confiáveis estatisticamente (Tabela 2).

Se considerarmos a variação entre as estações do ano os três parâmetros variam de formas distintas. A Glicose teve médias mais altas no Verão e no Inverno, 78,73 mg/dL e 73,17 mg/dL respectivamente. O Colesterol apresenta médias mais altas no outono e no inverno, 244,02 mg/dL e 249,57 mg/dL respectivamente. Os triglicerídeos se mantem relativamente constantes ao longo das estações, porém ocorre um aumento considerável entre as médias de inverno e primavera, de 340,74 mg/dL para 444,98 mg/dL.(Tabela 3)

A glicose mostrou diferenças significativas entre o verão e o outono: os resultados do verão foram mais altos que os do outono. Entre o verão e primavera, os resultados do verão foram maiores que os resultados da primavera. Os resultados do colesterol demonstram diferenças significativas entre o verão e o outono (resultados do verão menores que os resultados do outono), entre o inverno e a primavera (resultados da do inverno maiores que os resultados da primavera), entre o verão e a primavera (resultados do verão menores que os resultados da primavera) e entre o verão e o inverno (resultados do verão menos que resultados do inverno). Os Triglicerídeos apresentaram resultados significativamente menores no verão em relação à primavera (Tabela 4).

Individualmente machos e fêmeas variaram de forma distinta entre as estações para os resultados de glicose e triglicerídeos, enquanto a variação para os valores de colesterol foi semelhante nos dois sexos. Machos apresentam resultados mais baixos de glicose no outono enquanto fêmeas apresentaram resultados mais baixos na primavera. Machos tiveram seus maiores resultados de triglicerídeos no outono e no inverno, enquanto nas femeas isso ocorreu na primavera. A variação de cada sexo nos valores de colesterol foi semelhante a geral (Tabela 5 e 6)

Os três apresentam padrões de variação distintos. A glicose tendeu a ter médias mais altas no início do ano (84,73 mg/dL em janeiro) e mais baixas entre os meses de julho a outubro (73,99 mg/dL e 75,25 mg/dL respectivamente) (Figura 25). O colesterol tendeu a ter médias mais altas entre os meses de abril a agosto (238,828 mg/dL e 252,310 mg/dL respectivamente) (Figura 26). E os triglicerídeos tenderam a apresentar médias mais altas no final do ano, a partir de outubro até dezembro (420,81 mg/dL e 451,721 mg/dL) (Figura 27).

Comparando a variação de glicose separando machos e fêmeas, notamos que os machos tendem a ter valores mais altos que as fêmeas no início e no final do ano (entre janeiro e fevereiro e entre setembro e dezembro), enquanto que no meio do ano os valores se aproximam (entre março e agosto) (Figura 25).

O colesterol tende a variar de forma semelhante para ambos os sexos com os valores mais altos ocorrendo no meio do ano (entre março e outubro), sendo que as fêmeas sempre têm valores mais altos que os machos (Figura 26).

A variação e os resultados mensais de triglicerídeos são bem distintos entre os sexos. No geral, as fêmeas tendem a ter valores mais altos que os machos em todos os meses de análise. As Fêmeas tendem a ter valores mais altos de triglicerídeos no início e no final do ano (entre janeiro e abril e entre agosto e dezembro), enquanto os machos tendem a ter valores mais altos no meio do ano (entre março e agosto) (Figura 27).

No teste T para amostras independentes, que avaliou as diferenças entre os sexos, a glicose apresentou diferenças significativas entre os sexos no início e no final do ano. No mês de Janeiro e nos meses de outubro a dezembro, em ambos os períodos, machos tiveram valores mais altos que as fêmeas. Para praticamente todos os meses de análise houve diferenças significativas entre os sexos de colesterol e triglicerídeos. A única exceção foi o mês de junho, onde não houve diferença significativa entre os sexos para os valores de triglicerídeos. Em todos estes momentos as fêmeas apresentaram valores mais altos que os machos, para ambas as variáveis. (Tabela 9)

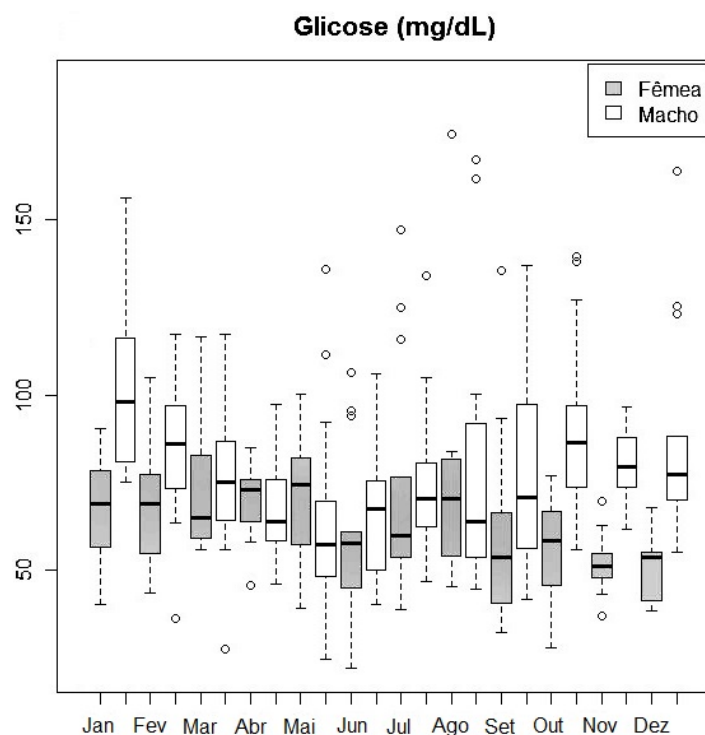


FIGURA 25: Variação da Glicose dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

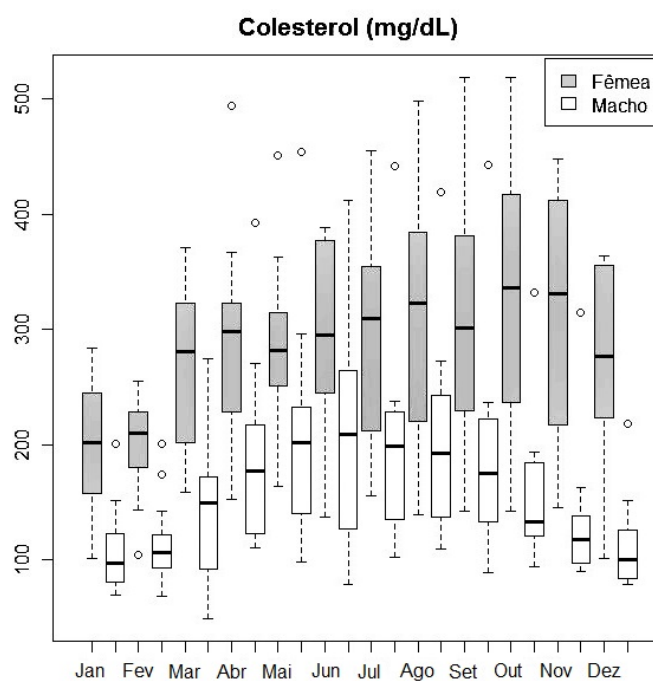


FIGURA 26: Variação do Colesterol dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

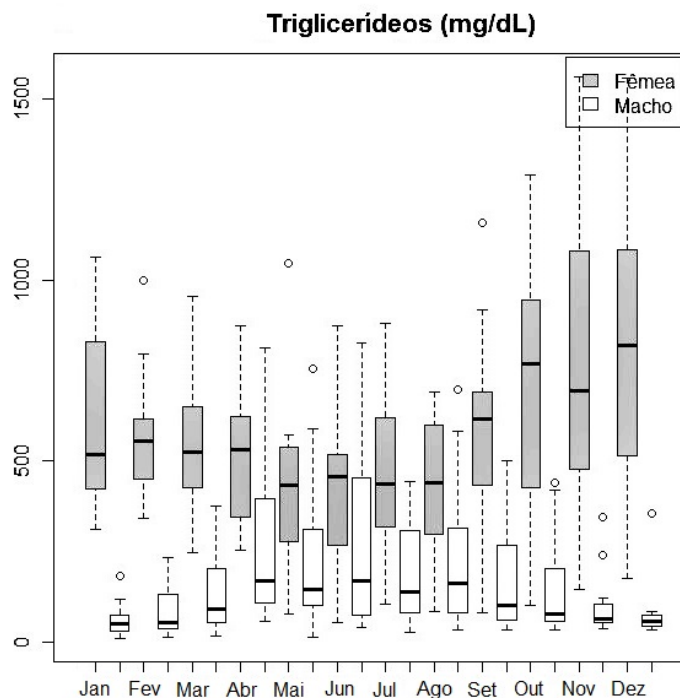


FIGURA 27: Variação dos Triglicerídeos dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.12. Avaliação do metabolismo muscular- Creatina Quinase (CK)

Em todos os momentos de análise a CK apresentou uma variação normal ($p>0,05$), ou seja, seus resultados são confiáveis estaticamente. (Tabela 2)

A CK manteve-se relativamente constante durante as três primeiras estações, porém entre o inverno e a primavera houve uma diminuição considerável nos seus valores médios, de 1049,44 UI/L no inverno para 593,87 UI/L na primavera (Tabela 3). Os resultados da primavera foram significativamente mais baixos que os resultados em relação a todas as outras estações, tanto na variação sazonal geral quando na variação sazonal dos machos. Nas Fêmeas os resultados na primavera foram apenas significativamente mais baixos que os resultados do inverno. (Tabelas 4, 5 e 6)

Analisado a variação mensal da enzima é possível notar que as médias se mantem relativamente altas durante a maioria do ano, apresentado

picos no em meses pontuais como março (1246,70 UI/L) e julho (1232,45 UI/L), porém a partir de agosto (926,39 UI/L) as médias mensais começam a decair continuando este padrão até dezembro (572,57 UI/L)(Figura 28).

Segundo o Teste T para amostras independentes, não há diferenças significativas entre os sexos em todos os meses de análise. (Tabela 9).

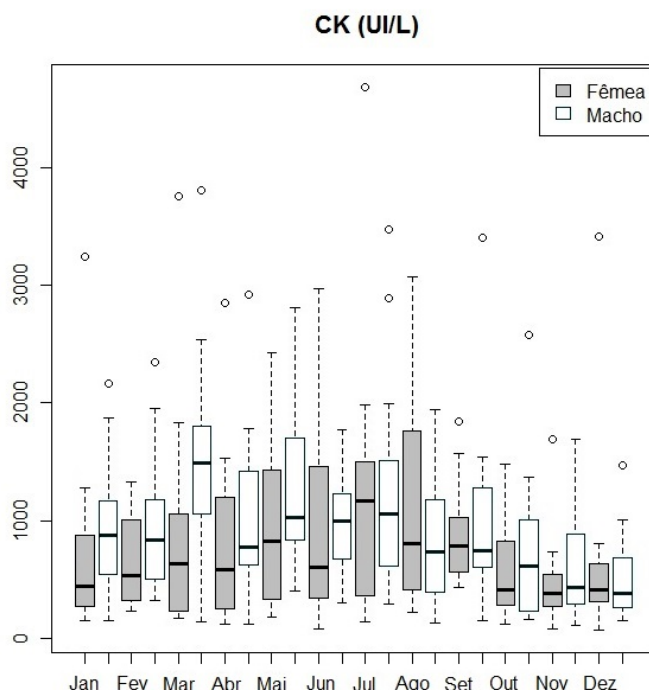


FIGURA 28: Variação da Cretina Quinase (CK) ao dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.13. Avaliação do metabolismo ósseo- Fosfatase alcalina (FA), Cálcio e Fósforo

Em todos os momentos de análise a FA apresentou uma variação normal ($p > 0,05$), ou seja: seus resultados são confiáveis estaticamente. Os resultados de cálcio e fósforo apresentam distribuição normal na maioria dos meses ($p > 0,05$) de análise o que significa, que a maioria dos resultados destes parâmetros pode ser considerada confiável (Tabela 2).

A análise mensal da FA mostra que ocorreu uma queda nas médias entre os meses de abril para maio (de 71,79 UI/L para 42,79 UI/L); os valores permaneceram constantemente mais baixos até o final do período de análise.

(Figura 16A). O cálcio não variou muito entre os meses. Os valores mais baixos ocorreram entre os meses de fevereiro (11,88 mg/dL) a agosto(11,92 mg/dL)(Figura 16B). As médias do fósforo se mantiveram constantes na maioria do ano, exceto em abril onde houve um pico (10,55 mg/dL)(Figura 16C). No entanto, já que este pico é muito pontual e existem muitas diferenças entre os valores individuais dos meses de março e maio para o mês de abril, este momento de análise para este parâmetro foi considerado inválido e excluído da análise estatística geral.

As médias FA não apresentam muita variação em números absolutos entre as estações: 49,07 UI/L no inverno e 69,82 UI/L no verão (Tabela 3). Porém houve diferenças significativas estatisticamente entre todas as estações: os resultados do verão foram significativamente mais altos que os do outono, do inverno e da primavera. Os resultados do outono foram maiores que os do inverno e, os resultados da primavera, foram maiores que os resultados do inverno (Tabela 4).

A variação sazonal de cada sexo para os resultados de FA foi semelhante a geral, a única exceção foi que os machos não apresentam variação significativa entre os resultados do outono e do inverno (Tabela 5 e 6)

As médias de concentração do cálcio também não variaram muito entre as estações em números absolutos: 12,59 mg/dL no inverno e 14,59 mg/dL na primavera. Os valores mais baixos ocorreram no inverno e no outono (12,60 mg/dL no outono)(Tabela 3). Não houve diferenças significativas entre as estações para esta variável (Tabela 4). As médias do Fósforo não variaram muito em números absolutos: média de 5,17 mg/dL no verão, 4,46 no outono mg/dL. As maiores médias ocorreram no verão (5,17 mg/dL) e no inverno (5,01 mg/dL). Não houve diferenças significativas para os resultados do fósforo entre as estações.

Houve variações sazonais significativas nos resultados de cálcio quando cada sexo foi analisado individualmente: machos apresentaram resultados mais baixos no inverno em relação ao outono enquanto fêmeas apresentaram resultados mais altos na primavera em relação a todas as outras estações. (Tabela 5 e 6)

As concentrações do fósforo variaram de forma significativa quando cada sexo foi analisado individualmente. Machos tiveram resultados mais altos no verão em relação a todas as outras estações, e resultados mais baixos no outono em relação a todas as outras estações. Fêmeas variam menos que os machos apresentando resultados mais baixos no outono em relação à primavera (Tabela 5 e 6)

Analizando a variação entre os sexos ao longo do período de análise para os valores da FA, é possível notar que as fêmeas sempre tendem a ter valores mais altos que os machos (Figura 16A). Segundo o teste T esta diferença é significativa estatisticamente de janeiro a março, no mês de maio e de novembro a dezembro (Tabela 9).

Existe uma diferença considerável entre os sexos para os valores de cálcio, fêmeas tenderam a ter valores mais altos e mais variáveis que os machos (Figura 30). Fêmeas tenderam a ter valores mais altos de fósforo em relação aos machos (Figura 31)

O teste T e o de Mann Whitney revelaram que fêmeas tiveram resultados de cálcio significativamente mais altos que machos entre os meses de julho e dezembro, com exceção do mês de agosto. Enquanto que nos valores de fósforo, sempre ocorreu variação significativa entre os sexos exceto no mês de janeiro, em todos os casos as fêmeas apresentaram médias maiores que os machos (Tabela 9)

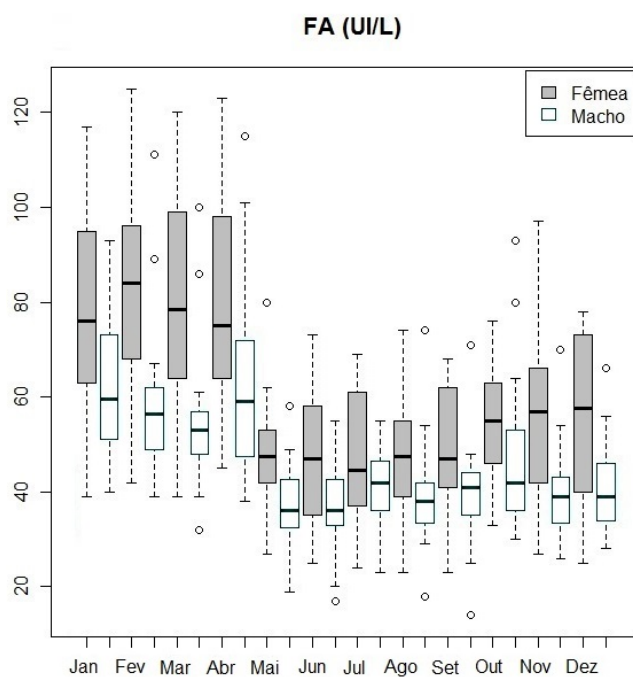


FIGURA 29: Variação da Fosfatase Alcalina (FA) dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

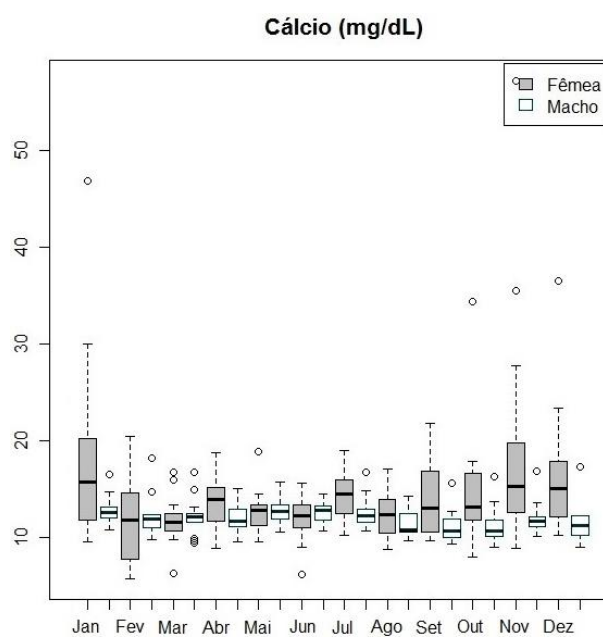


FIGURA 30: Variação do Cálcio dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

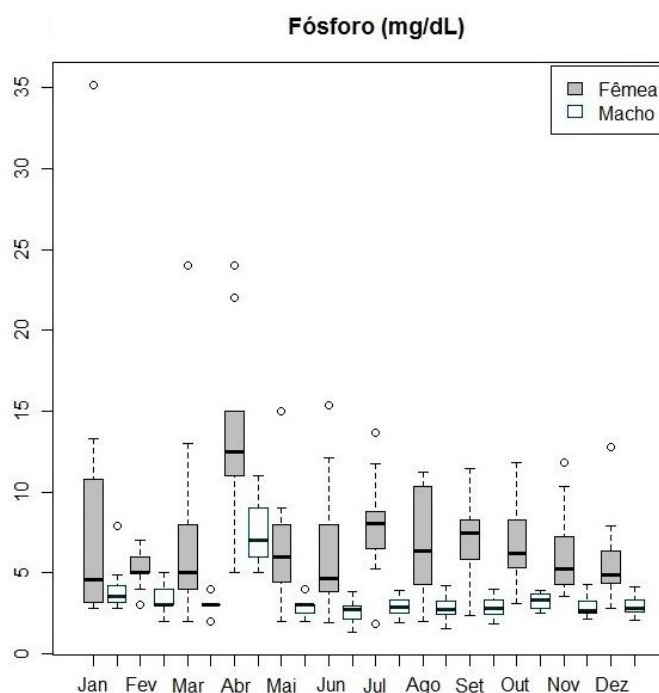


FIGURA 31: Variação do Fósforo dos Jabutis Piranga (*C. carbonaria*) ao longo de todo o período de análise com discriminação entre os sexos. Botucatu SP 2016

5.14. Resultados da Aferição de Temperatura e Precipitação Total

Observando a figura 17, que representa a variação das aferições de temperatura no momento da coleta, é possível notar que as aferições de maio a agosto apresentaram médias de temperatura mais baixas (entre 21,4 °C e 23,4 °C) do que o resto o ano (entre 27 °C e 24,2 °C). Algo semelhante pode ser observado na figura que representa a variação de temperatura da região segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (Figura 18A), onde a temperatura média começa a diminuir em abril e volta a aumentar a partir de agosto.

Segundo os dados obtidos através do INMET (Figura 18B), os meses de abril a agosto tiveram níveis de precipitação total baixos (exemplo, precipitação total do mês de agosto: 33,8 mm); ou seja: estes foram alguns dos meses mais secos na região.

Estes dados confirmam que a região de Botucatu possui um clima temperado úmido com inverno seco e verão quente (Cwa) segundo sistema de Koppen-Geiger (PEEL, et al 2007)

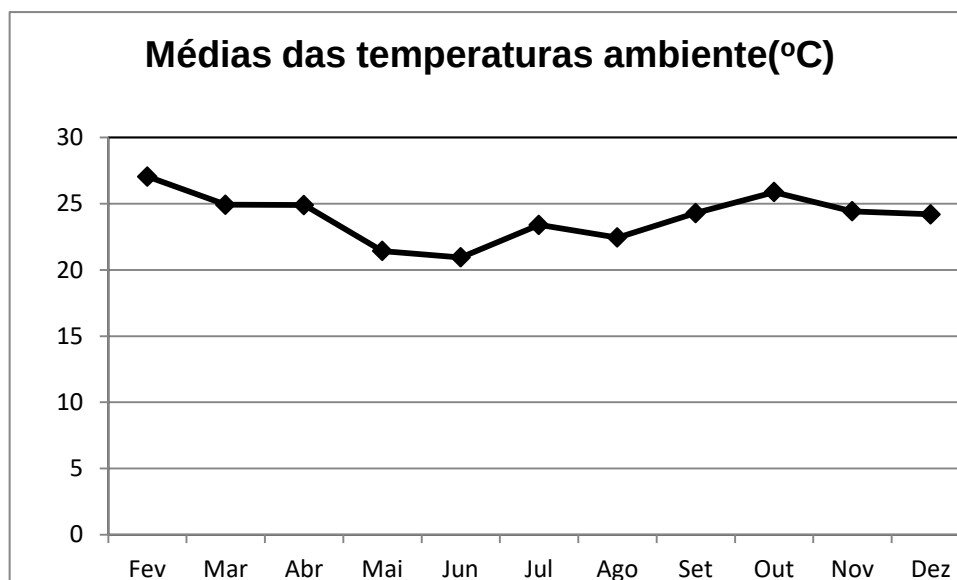


FIGURA 32: Variação da média mensal das aferições da temperatura ambiente no momento da coleta ao longo dos doze meses de análise. Botucatu SP 2016

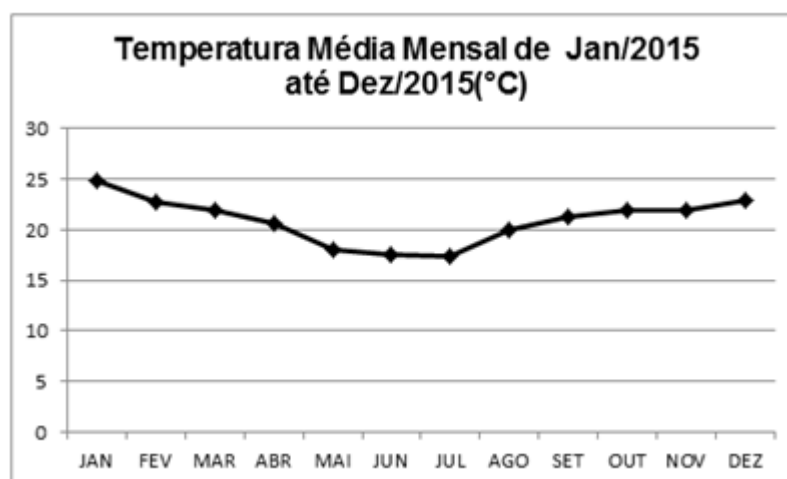


FIGURA 33: Variação da temperatura média mensal da região de Botucatu longo dos doze meses de análise. (Fonte: INMET). Botucatu SP 2016

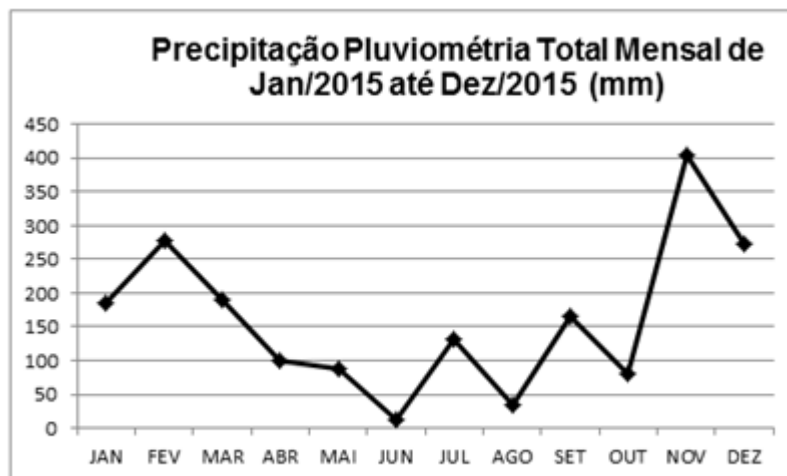


FIGURA 34: Variação da Precipitação Pluviométrica Total mensal da região de Botucatu longo dos doze meses de análise. (Fonte: INMET). Botucatu SP 2016

6. DISCUSSÃO

6.1. Hematologia

Os Jabutis Piranga apresentaram uma contagem total de eritrócitos variável, apesar do resultado nunca ter passado de um milhão de eritrócitos. Muitos animais apresentavam contagem diferentes entre os meses, consequentemente o Volume Corpuscular Médio (VCM) mostrou um grande intervalo, variando em até duzentas unidades, sem que isso significasse que houvesse anisocitose de hemácias no esfregaço. A concentração de hemoglobina em muitos casos se mostrou equivalente ao resultado do volume globular dividido por três ou quatro. A contagem total de leucócitos destes jabutis se mostrou menos variável que a de hemácias. Eles normalmente apresentavam os Heterófilos como células mais predominantes na contagem diferencial seguido do Linfócito, alguns indivíduos inclusive apresentavam mais Linfócitos do que Heterófilos no diferencial. Quanto à morfologia dos leucócitos, os basófilos foram as células que apresentam maior variação no formato, no tamanho e na sua quantidade de grânulos; monócitos e azurófilos também apresentam grande variação de tamanho e formato, mas geralmente os monócitos eram maiores que os azurófilos.

6.1.1. Eritrograma.

Os autores Christopher et al., 1999, Zaias et al., 2006, Chaffin et al., 2008 Cabrera et al., 2011; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Bielli et al., 2015 e Kelly et al., 2015 estudaram outras espécies de quelônios, e encontraram medias/ medianas dentro do intervalo desta pesquisa para os resultados da contagem total de hemácias ($0,242-0,793 \times 10^6 \text{ cel}/\mu\text{L}$). O mesmo ocorreu para a concentração de hemoglobina (2,52-8,90 g/dl) e para o volume globular (13- 35%). Nesta ultima variável foi possível inclusive fazer uma comparação entre mais espécies, pois muitos trabalhos se limitaram a medir somente o volume globular para avaliar a serie vermelha.(Tabela 10)

Todas as espécies de quelônios pesquisadas apresentaram médias de volume globular próximo à média encontrada nesta pesquisa (25,41%). Mesmo daquelas que habitavam um ambiente muito diferente, como o deserto no caso do *Gopherus agassizii* (mediana de 24,35 %) (CHRISTOPHER et al., 1999) ou apresentavam consideráveis diferenças anatômicas, como o quelônio de água doce *Emys marmorata* (média de 26,31%) (KELLER et al., 2012). Porém o trabalho que estudou uma espécie próxima em nível taxonômico ao *C. carbonaria*, o *Chelonoidis denticulata*, apresentou uma média de volume globular consideravelmente mais baixa: 20,3% (CABRERA et al., 2011). Isso pode ser atribuído ao fato deste trabalho ter usado como local de colheita o seio subcarapacial ao invés da veia jugular, o qual segundo a literatura possui maior chance de contaminação com linfa. (CAMPBELL 2012a)

O volume corpuscular médio (VCM) variou mais entre as espécies o que é esperado considerando que este parâmetro varia muito, mesmo dentro da mesma espécie. Mesmo assim, apenas Bielli et al., 2012 encontrou uma média fora do intervalo encontrado nesta pesquisa (339,46-660,92 fL). Os outros autores que aferiram o VCM, Christopher et al., 1999 e Cabrera et al., 2011, encontraram médias/medianas dentro intervalo encontrado em *C. carbonaria*

Dos artigos que aferiram a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), dois autores apresentaram médias/medianas fora do intervalo encontrado nesta tese (17,16-29,47g/dL): Cabrera et al., 2011 e Bielli et al., 2015 enquanto o outro autor obteve uma mediana dentro do intervalo:

Christopher et al.,1999. Esta discrepância provavelmente se deve as diferenças entre espécie e as diferenças de métodos de aferição desta variável.

Observando as variações dos valores eritrocitários para ambos os sexos durante o ano é possível notar que nos meses onde as aferições são, em geral, mais baixas, correspondem aos meses que tiveram temperatura e precipitação mais baixas (abril a julho) (Figuras 6, 7, 8 e 32). Isso pode ser notado principalmente nas figuras que representam a variação das médias da Concentração de Hemoglobina e do Volume Globular (Figuras 6 e 7). Assim é possível que haja uma relação entre o metabolismo eritrocitário e as condições externas, pois estes parâmetros diminuíram nos meses mais frios e secos. Agrupando os resultados da variação do eritrograma por estação, esta observação fica mais evidente. Principalmente na variação do volume globular, que possui seus valores mais baixos no outono e no inverno; as outras variáveis da série vermelha, (eritrócitos e hemoglobina) também tiveram sua média mais baixa no outono, mas estas aumentaram um pouco a média no inverno (Tabela 3). A diferença significativa que ocorreu para a concentração de hemoglobina entre o outono e a primavera, mostra que houve um aumento neste valor eritrocitário na mesma época que ocorreu um aumento na temperatura ambiente. Porém, a diferença entre as duas médias das estações é de 0,5 g/dL. Então, é provável que estas variações sazonais destes parâmetros eritrocitários, não interfiram tanto no estado clínico do animal (Tabela 4).

A diferença que ocorreu nos resultados da hemoglobina entre a primavera e o verão pode ter sido estatisticamente significativa. Porém, em números absolutos, uma diferença de menos que 0,5 g/dL não é clinicamente relevante. O mesmo vale para as diferenças que ocorreram entre as estações para os valores de VCM e CHCM.

Quando a variação sazonal de sexo foi analisada individualmente, ocorreram mais variações significativas para os resultados eritrocitários, apesar da diferença em números absolutos ser mínima. Fêmeas apresentam mais variações significativas entre as estações do que os machos, apresentando seus maiores resultados na primavera e os menores no outono. (Tabela 5 e 6)

Observando as figuras que discriminam as variações eritrocitárias entre machos e fêmeas (Figuras 6, 7 e 8), é possível notar que as fêmeas mantiveram valores consideravelmente mais baixos do que os machos, com exceção das aferições realizadas entre os meses de outubro a novembro. Segundo a literatura, a época reprodutiva do *C. carbonaria* tende a ocorrer na primavera e no verão, o período de nidificação pode variar dependendo da região estudada, mas existem relatos deste ocorrendo entre outubro e março. (OMAR e HERNANDES, 1997; CUBAS & BAPTISTOTTE, 2007) Tomando isso como base, é possível inferir que esta aproximação entre os resultados eritrocitários entre machos e fêmeas, pode estar relacionada com a época reprodutiva (situada na primavera e no verão); já que isso ocorreu na plena primavera (INMET 2016; SIMEPAR 2016), com os valores mais próximos ocorrendo em novembro. (Tabela 7, Figuras 6, 7 e 8).

Isso foi comprovado pelo teste T para amostras independentes já que não existem diferenças entre os sexos nos resultados todos os principais eritrocitários (Eritrocitos, Hb e VG) a partir de setembro. Como a estação reprodutiva começa na primavera, que tem seu início no final de setembro, (SIMEPAR 2016) é possível que esta aproximação tenha ocorrido devido à mesma (Tabela 7).

A estação reprodutiva também pode ser o motivo pelo qual as fêmeas tiveram resultados eritrocitários significativamente maiores na primavera (Tabela 6).

Dessa forma é possível inferir que as fêmeas aumentaram seu metabolismo eritrocitário durante a época reprodutiva (situada na primavera e no verão) provavelmente devido à produção de ovos conseqüentemente, elas aumentam seus resultados da série vermelha, aproximando-os dos resultados dos machos.

Trabalhos realizados em outras espécies de quelônios também encontraram variações no Eritrograma entre os diferentes momentos de coleta, porém nenhum dos trabalhos pesquisados possuía mais de uma avaliação por estação do ano.

Mesmo assim comparando os seus resultados podemos encontrar semelhanças com os resultados desta pesquisa.

Um artigo que abordava com tartarugas terrestres (*Gopherus agassizii*) de vida livre, no deserto de Mojave, Califórnia, os valores de volume globular, concentração de hemoglobina e contagem de eritrócitos, foram significativamente mais altos nas aferições feitas no verão. O autor também observou que as fêmeas possuíam valores mais baixos para estes parâmetros e variaram mais entre as estações do ano que os machos (CHRISTOPHER, et. al., 1999). Algo semelhante ocorreu com os *C. carbonaria*

Em outro artigo mais uma espécie de quelônio, a tartaruga aligátor (*Macrochelys Teminckii*), apresentou variações consideráveis entre as estações de verão e primavera, o hematócrito dos indivíduos foi significativamente maior no verão em comparação à primavera. Estes animais também eram de vida livre e as amostras foram coletadas nos estados de Geórgia e Flórida (Estados Unidos) (CHAFFIN, et. al., 2008).

Estas variações de volume globular também foram observadas em Tartarugas Marinhas Cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre, do estado da Carolina do Norte (Estados Unidos). Estes animais apresentaram valores maiores de volume globular no verão em comparação ao outono. (KELLY, et. al., 2015)

Artigos que usaram animais de cativeiro também encontraram variações. Um estudo realizado em outra espécie de quelônio terrestre (*Geochelone radiata*) na Geórgia (Estados Unidos) fez apenas uma coleta durante inverno e outra durante o verão, porém encontrou valores significativamente maiores de contagem eritrocitária e volume globular na estação mais quente e nos machos. (ZAIAS, et. al., 2006)

Autores que compararam apenas os resultados de machos e fêmeas também encontraram variações semelhantes às do *C. carbonaria*. Pesquisas realizadas na Itália e com animais de cativeiro, abordando duas subespécies diferentes do mesmo quelônio terrestre, o *Testudo hermanni*, reportaram que os machos possuíam valores mais altos de contagem eritrocitária, concentração de hemoglobina e volume globular. (ANDREANI, et. al., 2014; BIELLI, et. al., 2015).

As variações apresentadas no Eritrograma no presente estudo e em nos artigos citados mostram que vários fatores influenciam o metabolismo

eritrocitário dos quelônios, estes podem ser extrínsecos (como a temperatura do ambiente) ou intrínsecos (como o estado reprodutivo).

6.1.2. Leucograma

Os seguintes artigos pesquisados abordaram outras espécies de quelônios e realizaram a aferição de Leucócitos totais: Christopher et al., 1999, Zaias et al., 2006 Chaffin et al., 2008, Cabrera et al., 2011, Keller et al., 2012 Bielli et al., 2015 e Kelly et al., 2015. Estes autores obtiveram médias ou medianas dentro do intervalo encontrado neste trabalho (3500-19700 cel/ μ L) (Tabela 11).

Porém é importante ressaltar que algumas espécies como a *Macrochelys temminckii* e *Emys marmorata*, apresentaram médias consideravelmente maiores do que a média encontra para *C carbonaria* (8648,66 cel/ μ L), 12300 cel/ μ L e 14665 cel/ μ L respectivamente (CHAFFIN et. al., 2008; KELLER et. al., 2012). (Tabela 11)

É possível que esta discrepância esteja relacionada ao fato destes trabalhos abordarem animais de vida livre que são expostos a mais patógenos que os animais de cativeiro. Outro artigo que estudou outra espécie de quelônios, *Gopherus agassizii*, também utilizou animais de vida livre e obteve uma mediana geral de leucócitos totais consideravelmente mais baixa quando comparada ao valor obtido neste trabalho, 4683,75 cel/ μ L. Porém esta espécie de quelônio costuma hibernar nas épocas frias, comportamento não apresentado pelo *C. carbonaria*. E que segundo o próprio autor do referido trabalho (CHRISTOPHER, et. al., 1999), interfere nos resultados de leucócitos totais.

Todos os seguintes artigos pesquisados que realizaram a contagem diferencial de leucócitos encontraram o heterófilo como leucócito mais predominante: Christopher et al., 1999, Zaias et al., 2006 Chaffin et al., 2008, Cabrera et al., 2011, Bielli et al., 2015 e Kelly et al., 2015 (Tabela 11). Porém Keller et al 2012 abordou a *Emys marmorata*, a qual apresentou o linfócito como leucócito mais predominante (Tabela 11). O eosinófilo foi a célula que mais variou entre as espécies. Estas discrepâncias podem ser atribuídas às diferenças entre as espécies, ou aos diferentes ambientes que estas estão expostas.

Apesar destas diferenças entre as espécies, todas as médias ou medianas que os outros trabalhos encontraram para todas as células diferenciadas na contagem diferencial de leucócitos, se inseriram nos intervalos encontrados neste trabalho (Tabela 11).

Nem todos os trabalhos pesquisados apresentaram valores distintos de monócitos e azurófilos. Os autores Zaias et al., 2006 e Bielli et al., 2015 se limitaram a aferir apenas a quantidade de monócitos, enquanto Chaffin et al., 2008 aferiu apenas a quantidade de azurófilos (Tabela 11). O que mostra que ainda existe controvérsia de que estas células contadas separadamente.

O fato dos resultados dos leucócitos totais serem menores na primavera em relação ao outono e ao inverno mostra que neste período houve uma diminuição do estímulo imune. Porém, a média de leucócitos totais não é tão baixa (7854 cel/ μ L- Tabela 3) e por este motivo não podemos afirmar que os animais estão imuno deprimidos. Na verdade pode ter ocorrido o contrário, já que os animais se alimentaram melhor na primavera (evidenciado pela diminuição do colesterol e o aumento de proteína plasmática nesta época). É possível que seu sistema imune tenha ficado mais ativo e, portanto adoeceram menos e o número total de leucócitos acabou por diminuir.

A diferença significativa entre os leucócitos totais entre o verão e a primavera, pode ter ocorrido devido à época reprodutiva. Como evidenciado pelas concentrações de triglicerídeos das fêmeas (Figura 15C), o pico da época reprodutiva deve ter ocorrido na transição entre a primavera e o verão.

Neste período, os animais devem ter passado por um estresse reprodutivo, devido a produção de ovos das fêmeas e as brigas entre os machos ou por um estresse térmico devido a altas temperaturas. Este pode ter sido o motivo para os leucócitos totais estarem mais altos no verão em relação à primavera. A presença de estresse reprodutivo pode também ser evidenciada pela diferença que os heterófilos apresentam entre o verão e a primavera, segundo a literatura (CAMPBELL 2012a), estas células tendem a aumentar no estresse por estímulo de glicocorticoides. Como os heterófilos estão mais altos no verão, é um indicio que o nível de estresse foi maior nesta estação.

Quando variação sazonal de cada sexo foi avaliada individualmente, a queda nos leucócitos totais da primavera foi menos evidente, porém ela ainda existe e assim pode-se usar a mesma justificativa (Tabela 5 e 6)

Os Heterófilos apresentaram resultados significativamente mais altos no verão em relação ao outono e ao inverno. Isto pode ter ocorrido por duas razões: em primeiro lugar, répteis tendem a ter números mais baixos de heterófilos nas estações frias (CAMPBELL 2012a, CHRISTOPHER et al., 1999). Outra razão possível seria que no verão os animais sofrem estresse reprodutivo e quando a época reprodutiva acaba no outono, ocorre uma diminuição nos níveis de estresse e consequentemente no número de heterófilos. Outra hipótese para os altos resultados de heterófilos seria o estresse térmico devido as altas temperaturas que ocorreram no verão (figura 32). As outras variações significativas dos heterófilos podem ser justificadas, pelas mesmas razões que foram apontadas para justificar a variação dos leucócitos totais. (Tabela 4)

As mesmas justificativas utilizadas na variação sazonal geral dos Heterófilos podem ser aplicadas, para a variação sazonal de cada sexo. Fêmeas tiveram mais variações significativas entre as estações e seus menores valores de heterófilos foram na primavera e no inverno. Assim este sexo parece ter sofrido menos estresse na segunda metade do período de análise (Tabelas 5 e 6)

Como a função dos basófilos nos répteis não é muito definida torna-se difícil justificar suas variações entre o inverno e a primavera e entre a primavera e o verão. No entanto é possível dizer que esta célula tende a ficar mais alta no início da época reprodutiva (situada na primavera e no verão). Isso ocorreu tanto na variação sazonal geral quanto na variação sazonal de cada um dos sexos (Tabelas 4, 5 e 6)

Pelas variações significativas na quantidade absolutas de linfócitos é possível notar que estas células tenderam a ficarem mais altas no inverno, os resultados desta estação são significativamente maiores que os do verão, do outono e da primavera. Esta variação pode ser observadas nos resultados gerais e nos resultados de cada sexo. Isto provavelmente indica que o estímulo

imune é maior no inverno o que levaria a um aumento nos numero de linfócitos por reação (Tabela 4, 5 e 6).

A variação em números absolutos de monócitos e azurófilos é muito baixa (Desvio Padrão: monócitos: 296,29 cel/ μ L, azurófilos: 218,08 cel/ μ L Tabela 1) para afirmar se as variações entre estações(gerais e de cada sexo) foram clinicamente relevantes. Porém, foi possível notar que o padrão de variação destas células é bem distinto, o que ressalta a importância de diferenciar as duas na contagem diferencial (Tabela 4, 5 e 6).

Kelly et. al., 2015 observou um aumento significativo dos heterófilos durante o outono em *C. caretta* de vida livre. O autor associou esta mudança ao fato que na população amostrada durante o outono, havia indivíduos migrantes os quais, segundo ele, estavam expostos a um nível de estresse maior devido à migração. Os jabutis apresentaram uma quantidade maior de heterófilos durante o verão devido provavelmente ao estresse reprodutivo ou térmico, ou seja, em ambos os trabalhos houve aumento de heterófilos causado aparentemente devido ao estresse.

Christopher et al., 1999 , observou uma queda significativa na quantidade de linfócitos, em *G. agassizii*, durante a hibernação que ocorre no inverno para esta espécie. O autor associou esta diferença a uma diminuição do estímulo imune devido a menor exposição a antígenos durante a hibernação. Em *C. carbonaria* ocorreu o contrário; os linfócitos se mostraram significativamente mais altos no inverno em relação a todas as outras estações.

Esta diferença entre espécies pode ter ocorrido pelo fato dos jabutis não hibernarem durante o inverno e por este motivo ficarem expostos a todos os agentes infecciosos, que são mais frequentes nesta estação e, portanto o estímulo imune para os jabutis acabou sendo maior. E apesar deles estarem se alimentando menos, evidenciado, pela alta concentração de colesterol, eles não estavam imuno deprimidos, considerando que a quantidade de leucócitos totais apresentava-se normal. Por este motivo, eles tiveram uma resposta imune adequada e aumentaram sua quantidade de linfócitos totais por reação.

Outros trabalhos demonstram padrões de variação diferentes para os leucócitos em geral, mostrando que esta variação depende muito do ambiente que o animal está submetido.

Analisando as variações leucócitos entre os sexos (Figura 7), é possível notar que as maiores discrepâncias parecem ocorrer no momento de trocas de estações e durante a época reprodutiva (situada no verão e na primavera), porém como não há diferença significativa entre os sexos nos resultados de leucócitos totais para todos os momentos de análise estas discrepâncias não parecem ser tão relevantes. Os dois tipos de leucócitos que apresentam a maior contagem diferencial, heterófilos e linfócitos, não apresentaram muitas diferenças relevantes entre os sexos (Tabela 8). Assim a relevância das diferenças sexuais entre leucócitos, não parece ser muito grande.

Porém houve algumas diferenças sexuais significativas nos resultados de eosinófilo, monócitos e azurófilos (Tabela 8)

As maiores discrepâncias de eosinófilos (Figura 13), entre machos e fêmeas, parecem ocorrer nos meses onde a temperatura foi alta (janeiro, fevereiro e março) (Figura 13 e 32). Inclusive, segundo a avaliação estatística, as fêmeas tiveram valores mais altos que os machos nestes meses (janeiro, fevereiro e março) (Tabela 6). Para esta variável, machos parecem ter médias discretamente mais altas nos meses mais frios (junho, julho e agosto) (Figuras 13 e 32 e Tabela 8), porém em nenhum destes houve diferenças significativas entre os sexos.

Cada sexo também apresentou padrões de variação sazonal distintas para os resultados de eosinófilos absolutos. Machos apresentaram seus maiores resultados no outono e no inverno, reforçando a hipótese que este sexo apresenta uma quantidade maior de eosinófilos nas estações mais frias. (Tabela 5). Fêmeas variaram, menos apresentando variação significativa apenas entre o verão e outono, sendo que os maiores valores ocorreram no verão, porém esta variação pode ter ocorrido por vários motivos, como os eosinófilos variaram muito e sua função não totalmente definida, torna-se difícil apresentar uma hipótese concreta. (Tabela 6)

Pode-se afirmar então que os eosinófilos foram os leucócitos que mais variaram entre os sexos.

As diferenças significativas entre os sexos para os resultados de Monócitos ocorreram nos meses de abril, maio e setembro, onde as fêmeas possuem valores mais altos que os machos. Estes meses são: os dois

primeiros meses do outono e o último mês do inverno respectivamente. Aparentemente as diferenças significativas dessas células ocorrem no início e no final das estações frias (Tabela 8).

As diferenças significativas entre os sexos dos azurófilos são muito pontuais para fazer uma correlação com as mudanças ambientais. Porém foi possível notar novamente que estas células apresentam um padrão de variação diferente dos monócitos, o que reforça a importância de aferir os azurófilos nos quelônios (Tabela 8).

6.1.3. Contagem Estimada de Trombócitos

A variação dos trombócitos não parece ter sido muito significativa ao longo do ano (Tabela 1). No entanto, como não foi possível realizar a análise estatística para esta variável por causa da grande quantidade de amostras que apresentaram agregação trombocitária, não há como afirmar com certeza.

Apenas três autores entre todos os artigos pesquisados avaliaram os trombócitos: Machado, et al., 2006, Kelly et al., 2012 e Adreani, et al., 2014. Desses, apenas um apresentou resultados numéricos desta célula e como este envolvia amostras de sangue de Jiboias coletadas com EDTA, é difícil fazer uma comparação (MACHADO, et al., 2006). Aparentemente até que se encontre uma forma mais exata de mensurar estas células nos quelônios será difícil obter resultados de análise significativos

6.2. Bioquímica

Os Jabutis piranga apresentaram algumas particularidades em relação aos exames Bioquímicos: Eles possuem dois produtos finais do metabolismo proteico, a ureia e o ácido úrico, apesar dos dois terem variado ao longo do período de estudo, a ureia sempre se mostrou mais alta que o ácido úrico, ou seja, aparentemente a ureia é o principal metabolito proteico desta espécie. Quanto à atividade enzimática hepática estes animais apresentaram uma baixa concentração de ALT no plasma, tanto que em muitos casos esta foi tão baixa que não pôde ser lida pelo espectrofotômetro. Assim a AST se apresentou a enzima presente no metabolismo hepático, com maior concentração no plasma. Os jabutis também demonstraram concentrações plasmáticas de glicose e triglicerídeos particularmente variáveis, principalmente entre os sexos.

6.2.1. Proteína Plasmática Total

Todos os seguintes aferiram a proteína plasmática apresentaram médias ou medianas dentro do intervalo encontrado para *C. carbonaria* (2,2-8,8 g/dL): Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Ehsanpour et al., 2014; Kelly et al., 2015. As médias em si também se apresentaram bem próximas da média geral obtida neste trabalho (5,01 g/dL- Tabela 1). Nenhuma média ou mediana apresentou uma diferença maior do que 1,67 g/dL (Tabela 10). É possível notar que mesmo com a baixa das médias no outono, as duas aferições de proteína plasmática tendem a aumentar no inverno e depois na primavera. O aumento dos valores no inverno pode estar ocorrendo por causa da desidratação, já que este foi o período mais seco (Figura 20).

As diferenças significativas que ocorreram entre as estações para os resultados de proteína plasmática, podem ser justificadas por razões distintas: a diferença que ocorreu entre o outono e o inverno e entre o verão o inverno, nos resultados aferidos pelo espectrofotômetro (Tabela 4), podem ser justificadas pela desidratação, já que os níveis de precipitação são mais baixos nesta época (Figura 20). A diferença entre o verão e a primavera em ambas as aferições (Tabela 4), também pode ser justificada pela desidratação, apesar do verão e da primavera terem níveis precipitação pluviométrica total semelhantes (Figura 20), na primavera os animais estão saindo de uma estação seca, enquanto no verão eles estão há mais tempo numa estação chuvosa. Por este motivo, é de se esperar que eles fiquem mais hidratados no verão.

A variação sazonal de machos e fêmeas parece ser semelhante, os dois sexos aparentemente apresentaram um aumento progressivo ao longo do período de análise, porém fêmeas tiveram mais variações significativas entre as estações que machos, principalmente quando este parâmetro foi mensurado pelo espectrômetro. Assim aparentemente o metabolismo proteico das fêmeas é mais influenciado pelo ambiente que o dos machos (Tabela 5 e 6)

Outro fato que reforça esta hipótese é que entre o verão e a primavera as médias de ureia e ácido úrico também diminuíram (Tabela 3), mostrando que os animais estavam mais hidratados no verão. A diferença apresentada entre os resultados de outono e primavera em ambas as aferições pode ser

justificada pela mudança no consumo de alimento. O outono também foi a estação que a glicose apresentou seus menores resultados (média de 66,76 mg/dL Tabela 3), o que indica que os animais consumiram menos alimentos nesta época. Então, é esperado que a proteína plasmática fosse maior em uma estação onde os animais se alimentaram melhor.

Os resultados baixos de proteína plasmática no meio do ano (Figuras 19 e 20) coincidem com médias baixas no hematócrito (Figura 8), isto pode indicar que a queda destes dois valores ocorreu por causa de baixa ingestão de alimentos ou queda no metabolismo.

Christopher et al., 1999 encontrou em *G. agassizii* variação significativa na proteína plasmática ao longo das estações do ano, com valores mais baixos nos meses mais frios, porém o autor deste trabalho atribuiu esta variação ao fato destes animais entrarem em hibernação nesta época e, portanto, não se alimentarem, algo que não ocorre no *C. carbonaria*

Os meses em que as fêmeas apresentam valores significativamente mais baixos que os machos para os valores de proteína plasmática total, aferida por refratometria, foram todos os meses do outono (abril, maio e junho) e o primeiro meses do inverno (julho) (Tabela 9). Isso reforça a hipótese que as fêmeas são mais impactadas pelas mudanças do ambiente, pois seu metabolismo proteico parece decair mais no início da época mais fria. Na aferição de proteína plasmática realizada no espectrofotômetro a diferença entre os sexos é mais evidente, fêmeas apresentam resultados significativamente mais baixo que os machos em todos os meses de análise exceto nos meses de novembro e dezembro. Estes dois meses fazem parte da primavera então a aproximação dos resultados indica que as fêmeas aumentam seu metabolismo proteico neste período provavelmente devido à época reprodutiva (Tabela 9).

Zaias et al., 2006 observou em *G. radiata* que somente as fêmeas apresentaram valores significativamente mais altos de proteína plasmática no verão em relação ao inverno. Isso pode ser relacionado ao que aconteceu com *C. carbonaria* deste estudo, afinal fêmeas tiveram mais variações significativas entre as estações que os machos. E fêmeas tiveram seus maiores resultado de proteína plasmática numa estação quente, na primavera, estes foram

significativamente maiores que os resultados de todas as outras estações (Tabela 6).

6.2.2. Sistema Renal- Ureia e Ácido Úrico

Os seguintes artigos que aferiram a Ureia plasmática, ou o Nitrogênio urêmico do sangue (BUN): Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Ehsanpour et al., 2014. Estes autores encontraram valores de média ou mediana dentro do intervalo encontrado neste trabalho (1- 103 mg/dL) (Tabela 12).

Os mesmos autores aferiram o ácido úrico e encontraram médias ou medianas dentro o intervalo deste estudo (0,1-8,4 mg/dL) (Tabela 12).

A semelhança considerável entre espécies destes metabolitos é interessante, principalmente se considerarmos que dentro das espécies pesquisadas, existem quelônios terrestres, semiaquáticos e marinhos. Espécies que são submetidas a níveis de desidratação distintos e ainda assim apresentaram semelhanças marcantes nas concentrações plasmáticas de ureia e ácido úrico.

O maior aumento do ácido úrico ocorre entre o outono e o inverno (Tabela 3). Como estas são as épocas mais secas do ano, o mais provável é que isso ocorra devido aos animais começarem a sintetizar ácido úrico ao invés da ureia, já que este metabolito precisa de menos água para ser eliminado. Este mecanismo ajuda os jabutis a poupar água quando a época é mais seca. Outro indício que ocorreu desidratação entre estas estações é o aumento da proteína plasmática (espectrofotômetro) no mesmo período.

O fato da ureia se manter alta no mesmo período mostra que os jabutis continuam a sintetizar este metabolito na estação seca, o aumento que ocorreu entre o verão e o inverno (Tabela 4) deve ter ocorrido devido à diminuição da filtração renal; outro mecanismo que os animais usam para poupar água em épocas secas.

A análise estatística revelou que o ácido úrico apresentou seu maior aumento entre o outono e o inverno; enquanto na ureia o maior aumento ocorreu entre o verão e o inverno. Isto mostra que os animais ao entrarem em estado de desidratação, provavelmente recorrem em primeiro momento à

diminuição da filtração renal, aumentando a concentração de ureia. Posteriormente com a progressão da estação seca, eles aumentam a produção de mais ácido úrico e por este motivo o aumento deste metabolito é posterior à ureia (Figuras 21 e 22).

O ácido úrico inclusive também apresentou um aumento significativo entre o inverno e a primavera e entre o outono e a primavera. (Tabela 4) Neste caso isto provavelmente ocorreu pelo fato dos jabutis aumentarem seu consumo de proteínas com o início da estação quente e, conseqüentemente aumentarem sua concentração média de ácido úrico. O fato dos dois metabólitos terem se apresentado mais baixos no verão em relação à primavera, pode ter ocorrido pela permanência na estação chuvosa, ou pelo fato dos resultados da proteína plasmática total (ambas aferições) também serem mais baixos no verão em relação à primavera.

Ehsanpour et al., 2014 estudou as Tartarugas de pente (*Eretmochelys imbricata*) e aferiu a ureia plasmática durante a estação de nidificação (Março e Abril, início da primavera) e durante a época de alimentação (Novembro e Dezembro, final do outono). Este autor encontrou níveis mais baixos desse metabolito, durante a época de nidificação e associou este fato aos animais se alimentarem menos nesta época. Isso concorda com os achados deste trabalho, já que a ureia e a proteína plasmática em jabutis se mostrou progressivamente mais baixa com o decorrer à época reprodutiva (primavera e verão). Os resultados de ureia e de proteína plasmática são significativamente mais baixos no verão em relação à primavera.

Christopher et al., 1999 também encontrou resultados semelhantes em *G. agassizii*. Estes animais apresentaram seus maiores valores de ácido úrico no inverno e na primavera e seus maiores valores de ureia durante o outono e inverno, semelhante ao que ocorreu no *C. carbonaria*. O autor associou os altos valores de ácido úrico com o alto consumo proteico na primavera e os altos valores de ureia com a desidratação que ocorreu no outono e no inverno. Como já discutido, nos Jabutis, as quantidades destes metabólitos parecem ter sido influenciadas por uma combinação dos dois fatores.

A análise mês a mês revela que o maior aumento das médias da ureia ocorreu entre os meses de abril e maio enquanto o aumento do ácido úrico ocorreu entre maio e junho (Figuras 21 e 22). Isto indica novamente que quando a época seca começou, os animais diminuíram a filtração renal e consequentemente a ureia aumentou. Posteriormente para poupar mais água, já que a estação seca continuou, os indivíduos começaram a sintetizar mais ácido úrico.

A variação sazonal de cada sexo revela que os machos tendem a produzir mais ureia nas estações secas, como o outono e o inverno, que tiveram resultados significativamente maiores que o verão, onde a precipitação pluviométrica foi maior (Tabela 5 e Figura 34). A variação da ureia nas fêmeas parece acompanhar a variação da proteína plasmática, tanto que este sexo apresentou os maiores resultados de ureia na primavera uma estação onde a proteína plasmática total também foi significativamente mais alta (Tabela 6).

A variação sazonal difere pouco entre os sexos para os resultados do ácido úrico, assim estas podem ser justificadas pelos mesmos princípios das variações sazonais gerais (Tabela 5 e 6).

A variação entre os sexos do ácido úrico parece acompanhar a variação proteica. Em praticamente todos os meses que um sexo apresenta um valor significativamente maior que outro para o ácido úrico, o mesmo sexo apresenta uma média maior de proteína plasmática (refratometria), mesmo que esta não significativamente mais alta (Tabela 9). A única exceção ocorre no mês de Julho. Neste momento as fêmeas apresentam valores significativamente maiores de ácido úrico que os machos, porém sua média de proteína plasmática foi menor que os machos no mesmo período. O fato dos machos também apresentarem valores significativamente mais altos de ureia no mesmo período (Tabela 9), indica que as fêmeas são mais sensíveis à desidratação. Este foi um dos períodos mais secos do ano, tanto machos quanto fêmeas devem ter apresentado desidratação. Porém as fêmeas iniciaram a síntese de ácido úrico antes dos machos, mostrando que elas recorrem a este mecanismo antes que os machos quando desidratadas, indicando que elas são mais sensíveis.

As diferenças entre os sexos de ureia podem ser justificadas pelo fato de machos possuírem uma concentração de proteína plasmática maior que as fêmeas, e por consequência, metabolizarem mais ureia, tanto que as diferenças significativas entre os sexos de ureia (abril a julho) e proteína plasmática (refratometria) (abril a junho) ocorrem em períodos semelhantes.

Ou seja: as fêmeas na época reprodutiva (situada na primavera e no verão) e próxima a esta, tentem a consumir, produzir e degradar mais proteínas, provavelmente pelo seu aumento no metabolismo para produzir ovos, e por este motivo a concentração de proteína plasmática e ureia das fêmeas se aproximou dos machos.

Em dezembro as fêmeas apresentaram resultados de ureia significativamente mais altos que os machos (Tabela 9). No mesmo momento de análise, não há diferença entre os sexos para ambas aferições de proteína plasmática. Mostrando que as fêmeas apesar de possuírem uma quantidade de proteína plasmática semelhante a dos machos, parecem ter degradado mais proteínas, provavelmente pelo aumento do metabolismo.

6.2.3. Metabolismo Hepático- Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase(AST).

Os seguintes trabalhos aferiram ALT e AST em outras espécies de quelônios: Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Ehsanpour et al., 2014; Kelly et al., 2015. Encontrando médias ou medianas dentro do intervalo deste trabalho (ALT: 2-74 UI/L e AST: 30-718 UI/L) (Tabela 12). Entre as espécies a média AST variou consideravelmente, com a média mais baixa sendo encontrada em *G. agassizii* (68,35 UI/L) (DICKINSON et al., 2002) e a mais alta encontrada em *E. marmorata* (219,95 UI/L)(KELLER et al., 2012).

Observando somente as enzimas por estação, parece que estas variam de forma contrária; já que a ALT possui seus maiores valores no inverno e na primavera enquanto a AST, possui seus maiores valores no verão e no outono. (Tabela 3)

Porém na análise mês a mês é possível notar que as variações das duas enzimas possuem semelhanças (Figuras 23 e 24). Tanto a ALT quanto a AST começam o período de análise em grandes alterações, apresentando uma

queda considerável entre abril e maio (Tabela 9 , resultados dos machos). A ALT continua a decair até junho enquanto a AST fica estável a partir de maio (Tabela 9). Estas quedas coincidem com o início do período mais seco e frio do ano, elas ocorreram no início do outono. O que indica uma queda no metabolismo hepático geral. A ALT continua a diminuir seus resultados por mais tempo, esta enzima é um indicador melhor da função hepática. Isto indica que o metabolismo hepático continuou a cair nesta época (Figura 23 e Tabela 9). A AST provavelmente voltou a ficar estável pelo fato da sua concentração ser influenciada por outros sistemas como o muscular (Figura 24 e Tabela 9). Outro fato é que como a AST possui normalmente concentração maior que a ALT, uma variação de poucas unidades acaba por influenciar mais na figura gráfica da ALT do que a AST. Em números absolutos podemos notar que ambas as enzimas não variaram muito.

Analisando a ALT separadamente pode-se notar que esta volta a aumentar a partir de julho e continua com este padrão até outubro isso indica um aumento do metabolismo hepático e coincide com o início do aumento das temperaturas médias mensais. (Figuras 23 e 32 e Tabela 9)

A variação estatística da ALT mostra que esta atingiu seus resultados mais altos na primavera. Os resultados do inverno são significativamente maiores que o outono (Tabela 4), ou seja: na segunda metade do ano os resultados de ALT entraram em ascensão da mesma forma que a temperatura ambiente (Figura 32), o que indica que o metabolismo hepático é influenciado pela temperatura ambiente, já que a atividade da ALT aumentou no mesmo momento que a temperatura começou a aumentar. Além disso, a variação da ALT é semelhante à variação do ácido úrico (Figuras 22 e 23), o que é esperado já que ambos são indicadores do metabolismo hepático/proteico.

Machos e fêmeas apresentaram variação sazonais semelhante para os resultados da ALT, estas podem ser justificadas, pelos mesmos princípios das variações sazonais gerais (Tabelas 5 e 6)

Christopher et al., 1999 encontrou em *G. agassizii* atividades de ALT baixas durante a hibernação (na estação fria) e altas durante as estações quentes onde o consumo proteico era maior. Os *C. carbonaria* apesar de não hibernarem também demonstraram baixas atividades de ALT quando a

temperatura ambiente estava mais baixa no outono (Tabela 4 e Figura 32) e demonstraram altas atividades ALT quando a proteína plasmática também estava mais alta, na primavera.

A AST se mantém relativamente constante durante o ano, não apresentando nenhuma diferença significativa entre as estações (Tabela 4).

Os machos sempre demonstram médias mais altas de ALT que as fêmeas durante todos os meses de análise, porém esta diferença só é significativa estatisticamente nos meses de agosto e setembro. Isso mostra que os machos tendem a ter ALT mais alta que as fêmeas, porém na maioria dos casos esta diferença não é tão marcante (Tabela 9).

Os machos apresentam a AST significativamente mais alta que as fêmeas entre os meses de março e agosto (Tabela 9), justamente os meses que não fazem parte da época reprodutiva (situada no verão e na primavera), com exceção de março todos os meses citados estão dentro do outono ou do inverno. A aproximação dos resultados de machos e fêmeas na época reprodutiva provavelmente ocorreu pelo fato das fêmeas terem entrado em catabolismo proteico para produzir ovos, isso é evidenciado pela aproximação dos resultados da proteína plasmática e da ureia entre os sexos em períodos semelhantes.

Machos apresentaram resultados de AST mais baixos na primavera em relação ao verão e ao outono, esta diminuição significativa, contribuiu para a aproximação dos resultados entre os sexos.

Andreani et al., 2014, em um estudo realizado em *Testudo hermanni* de cativeiro na Itália, encontrou diferenças significativas entre os sexos para os resultados de AST, onde os machos apresentaram-se com resultados maiores que as fêmeas, porém este trabalho aferiu este parâmetro somente no verão, em dois anos diferentes. E foi exatamente durante esta estação que os *C. carbonaria* não apresentaram diferenças significativas entre os sexos para os valores de AST (Tabela 9). Esta diferença pode ter ocorrido por se tratar de outra espécie de quelônio em outro ambiente, porém como o referido trabalho não realizou análises em outras estações se torna difícil fazer uma comparação mais aprofundada.

6.2.4. Metabolismo Energético- Glicose, Colesterol e Triglicérideos.

Os seguintes autores abordaram outra espécie de quelônio: Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Ehsanpour et al., 2014; Kelly et al., 2015. As médias ou medianas destes artigos de Glicose, Colesterol e Triglicerídeos se inseriram dentro o intervalo encontrado para *C. carbonaria* neste trabalho (22 a 174 mg/dL, 49 a 519 mg/dL e 8 a 1563 mg/dL, respectivamente)(Tabela 12). Estas semelhanças são particularmente interessantes, pois muitos trabalhos utilizaram animais de vida livre os quais em geral possuem uma disponibilidade de alimento bem menor do que os indivíduos de cativeiro.

A glicose começa o ano com resultados elevados no verão, porém estes sofrem uma queda significativa com a mudança de estações (Tabela 4), sendo que a média do outono é a mais baixa entre as estações (Tabela 3), a partir do inverno as médias começam a aumentar, continuando estáveis até o final do ano (Figura 33). A queda da concentração da glicose acompanha a queda da temperatura ambiente o que indica uma queda na ingestão de alimento quando a temperatura esta mais fria e precipitação pluviométrica esta menor (Figuras 33 e 34). A partir de julho (início do inverno) a concentração de glicose começa a aumentar, este fato pode ter ocorrido pelo aumento do consumo, a temperatura também começa a aumentar na mesma época, ou pelo fato dos animais terem começado a utilizar suas reservas de energia.

A concentração de Colesterol parece variar de forma inversa a glicose, suas maiores concentrações ocorrem no meio do ano (outono e inverno), quando a temperatura esta mais baixa e a precipitação esta menor (Figura 18 e Tabela 3). O colesterol é produzido quando há degradação dos triglicerídeos. Ou seja, aparentemente os jabutis utilizam mais os triglicerídeos para a produção de energia quando a temperatura esta mais baixa e consequentemente produzem mais colesterol, devido provavelmente à baixa da ingestão de alimentos neste período.

As diferenças significativas entre as estações reforçam estas hipóteses, a glicose diminuiu significativamente sua concentração entre o verão e o outono. Enquanto o colesterol se mostrou significativamente mais alto no

outono em relação ao verão e no inverno em relação ao verão e a primavera. A diferença significativa entre a primavera e o verão para os resultados de glicose e de colesterol pode ser explicada pelo fato de que na primavera os animais estão saindo de uma estação fria enquanto no verão eles já estavam em um período mais quente e de maior consumo de alimento há mais tempo e por este motivo a glicose apresentou-se mais alta no verão e o colesterol apresentou-se mais alto na primavera. (Tabela 4)

Kelly et al., 2015, em seu artigo que abordava tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*), encontrou uma correlação positiva entre a temperatura da água e a concentração de glicose, ou seja, neste artigo os animais aparentemente também se alimentavam melhor quando a temperatura estava mais alta. (KELLY et al., 2015) Algo semelhante ocorreu nos Jabutis, que tiveram suas maiores concentrações de glicose no verão(Tabela 3), onde a temperatura média foi mais alta(Figura 32)

Christopher et al., 1999 também encontrou uma queda considerável nos níveis de glicose em *G agassizii* entre o verão o outono, semelhante ao que ocorreu em *C. carbonaria*. O autor associou esta queda com o consumo do glicogênio hepático devido à diminuição gradual do consumo de alimentos entre as duas estações. O mesmo pode ter ocorrido em jabutis.

O mesmo trabalho encontrou resultados baixos de colesterol durante o outono e o inverno, o autor associou este fato a hibernação, já que os animais não se alimentam nesta época praticamente todos os metabolitos relacionados a alimentação diminuíram. O *C. carbonaria* apresentou resultados mais elevados de colesterol durante estas estações, esta diferença entre as espécies pode ter ocorrido pelo fato dos jabutis não hibernarem durante as estações frias, assim estes animais diminuem o consumo de alimento e acabam por usar suas reservas de triglicerídeos e produzindo colesterol. Por este motivo o colesterol aumenta na circulação, porém *G. agassizii* por estarem em hibernação diminuem seu metabolismo dessa forma provavelmente não precisam queimar tanto triglicerídeos e por isso a produção de colesterol diminuiu.

Machos e fêmeas possuem variações sazonais distintas para os resultados de glicose. Machos tiveram uma concentração significativamente

maior de Glicose no verão e na primavera em relação ao outono. Assim para este sexo a variação de glicose parece acompanhar a alimentação, já que as maiores concentrações ocorreram em épocas mais quentes em que os animais estavam se alimentando melhor como comprovado pela variação geral do colesterol. Fêmeas tiveram mais variações significativas entre as estações sendo que seus resultados na primavera foram menores que todas as outras estações. É possível, que estas variações estejam relacionadas à época reprodutiva, que tem seu início na primavera (Tabela 5 e 6)

A glicose apresenta uma variação considerável entre os sexos durante o ano (Figura 14A). No meio do período de análise, entre os meses de fevereiro a agosto machos e fêmeas possuem valores semelhantes de glicose, não existe diferença significativa entre os sexos durante este período segundo o teste T (Tabela 9). Porém tanto no início quanto no fim do ano, no mês de janeiro e entre meses de setembro e dezembro, existem diferenças significativas entre os sexos com fêmeas apresentando valores mais baixos de glicose que os machos (Tabela 9). Esta diferença está ocorrendo provavelmente por causa da época reprodutiva que segundo a literatura ocorre durante as estações de primavera e verão (OMAR e HERNANDES 1997; CUBAS e BAPTISTOTTE, 2007).

Praticamente todos os meses onde existem diferenças significativas estão dentro dessas estações, a exceção é o mês de setembro e mesmo assim este trata-se de um mês de transição entre o inverno e a primavera. Ou seja na época reprodutiva as fêmeas devem ter que gastar mais energia do que os machos para que possam produzir ovos, e por isso acabam por ter valores mais baixos de glicose.

Kelly et al., 2015 reportou que machos da espécie *C. caretta* apresentavam uma concentração de glicose maior do que as fêmeas, porém como este trabalho utilizou muitos animais juvenis não foi possível correlacionar esta variação com a época reprodutiva.

Fêmeas apresentam valores significativamente mais altos de colesterol do que os machos durante o ano todo, aparentemente esta é uma característica do sexo não sendo muito influenciada pela sazonalidade. Além disso, ambos os sexos apresentaram variações sazonais semelhantes, com os

maiores resultados no outono e no inverno e os menores na primavera e no verão

A variação da concentração de triglicerídeos difere tanto entre os sexos que uma análise geral levaria a interpretações erradas. Isso é evidenciado pelo fato de haver apenas diferenças significativas entre duas estações para os resultados gerais de triglicerídeos (verão e primavera), apesar da Figura 27 que diferencia os sexos indicar variações consideráveis para cada sexo ao longo do período de análise.

Machos apresentam valores significativamente menores que as fêmeas todos os meses do ano, exceto no de junho segundo o teste T de o teste de Mann Whitney (Tabela 9), neste mês não houve diferença significativa entre os sexos, porém o valor médio dos machos ainda foi menor que os valores médios das fêmeas.

Esta discrepância entre os sexos fica ainda mais evidente analisando as variações sazonais que machos e fêmeas apresentaram ao longo do período de análise.

Machos tenderam a ter valores mais altos de triglicerídeos nas estações frias, outono e inverno. Algo semelhante ao que ocorreu com os valores de colesterol para ambos os sexos. Isso provavelmente ocorre devido a menor ingestão de alimentos que ocorreu nesta época, que levou estes animais a utilizar suas reservas de energia e por este motivo a concentração plasmática de triglicerídeos aumentou. (Tabela 5)

Fêmeas apresentam uma variação completamente diferente. Seus resultados de triglicerídeos foram significativamente maiores no verão e na primavera. A primavera inclusive apresentou resultados significativamente maiores que todas as outras estações. Esta também foi a estação com os menores valores de glicose nas fêmeas. Como os triglicerídeos são essenciais para a produção do vitelo dos ovos e para o transporte de hormônios sexuais. Esta alta concentração na circulação provavelmente está ocorrendo por causa da estação reprodutiva (situada na primavera e no verão). (Tabela 6)

Christopher et al., 1999; Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006 e Chaffin et al., 2008 encontraram resultados semelhantes em outras de quelônios no que diz respeito à variação sexual de colesterol e triglicerídeos.

Fêmeas de *G. agassizii*, *G. radiata* e *M. temminckii*, também apresentaram valores mais altos de colesterol e triglicerídeos em relação aos machos. Porém, estes autores não analisaram muito como estes animais se comportam dentro e fora das épocas reprodutivas. Por estes motivos não descreveram qual é o perfil de variação para cada sexo ao longo do ano.

A variação sazonal de cada sexo de glicose e triglicerídeos confirma a hipótese que a aproximação dos resultados entre os sexos de Contagem Total de Eritrócitos (Eritrócitos), Concentração de Hemoglobina (Hb) e Volume globular (VG), ocorreu por causa da época reprodutiva. Já que a diferença significativa entre os sexos para estes valores cessa de existir próximo ao momento em que começa a haver diferença significativa entre os sexos para os valores de glicose. Além disso, fêmeas apresentaram seus maiores resultados eritrocitários e seus menores resultados de glicose na primavera, a estação onde a época reprodutiva se inicia (Tabelas 5, 6 e 9).

Neste mesmo período, fêmeas também começaram a apresentar valores consideravelmente altos de triglicerídeos. Ou seja, tudo indica que a partir do início da primavera as fêmeas começaram a produzir ovos, evidenciado pelo aumento da concentração de triglicerídeos na circulação. Por este motivo começaram a ter maior gasto de energia, consequentemente diminuíram suas concentrações plasmáticas de glicose e este aumento no metabolismo energético, provavelmente aumentou a demanda de oxigênio o que levou ao aumento dos valores da série vermelha.

6.2.5. Metabolismo muscular: Creatina quinase (CK)

Os seguintes autores aferiram a CK em outras espécies de quelônios: Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Ehsanpour et al., 2014; Kelly et al., 2015. Estes artigos encontraram valores dentro do intervalo encontrados em nesta tese (66-4691 UI/L) (Tabela 12).

A concentração de CK é diretamente influenciada pelo estresse de colheita. No mês de outubro, justamente no momento onde começou a ocorrer uma queda no valor médio da CK (Figura 28), houve uma troca na equipe de coleta então é possível que os dois eventos estejam relacionados. Outra possibilidade é que depois de terem sido coletados nove meses, na primavera os animais se acostumaram à contenção física e por este motivo tenham tido

menos estresse. Outra hipótese seria que com a maior prática na colheita por parte da equipe a amostra tenha sido obtida mais rapidamente e consequentemente houve menos estresse. Como a mudança nos valores de CK é muito influenciada pela contenção é difícil relacionar sua variação a outro aspecto fisiológico do animal.

As diferenças significativas reforçam estas hipóteses, pois a primavera apresentou resultados significativamente mais baixos em relação aos resultados de todas as outras estações (Tabela 4). Talvez se a contenção química fosse utilizada ao invés da física, a avaliação desta enzima fosse mais satisfatória.

É importante ressaltar que a diminuição da CK que ocorreu nos últimos meses de análise coincidiu com a diminuição dos leucócitos totais que ocorreu na primavera (Tabelas 3 e 4), como a literatura cita o estresse pode causar aumento de leucócitos, principalmente heterófilos (CAMPBELL 2012a). Então é possível que a diminuição do estresse de colheita (que interfere diretamente na CK) tenha contribuído para a primavera apresentar os menores resultados de leucócitos totais, heterófilos absolutos, linfócitos absolutos e monócitos absolutos (Tabelas 3 e 4).

Não há diferenças significativas entre os sexos, para os valores de CK, machos e fêmeas variaram de forma semelhante entre as estações (Tabelas 5, 6 e 7), Assim aparentemente ambos os sexos demonstram uma resistência à colheita semelhante.

6.2.6. Metabolismo Ósseo: Fosfatase Alcalina (FA), Cálcio e Fósforo.

As médias de FA encontradas em outras espécies de quelônios foram particularmente discrepantes, dos quatro que mediram esta enzima dois encontraram médias dentro do intervalo obtido nesta tese (14-125 UI/L) (DICKINSON et al., 2002, EHSANPOUR et al., 2014). Os outros dois obtiveram médias mais altas que o intervalo do *C. carbonaria*. O trabalho que estudou *Testudo hermanni* encontrou uma média 368 UI/L enquanto o que abordava *Emys marmorata* encontrou uma média 219 UI/L. Estas discrepâncias podem ser justificadas pelas diferenças entre as espécies, e o ambiente que estas estão submetidas (KELLER et al., 2012, ANDREANI et al., 2014) (Tabela 12)

Os artigos pesquisados que aferiram Cálcio e Fósforo foram: Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008; Keller et al., 2012; Andreani et al., 2014; Kelly et al., 2015. Estes autores encontraram médias dentro do intervalo desta tese (5,67-57,3 mg/dL e 1,3-35,2 mg/dL, respectivamente) (Tabela 8). As médias em si também se apresentaram bem próximas do valor obtido neste trabalho para estes minerais (13,15 mg/dL e 4,83 mg/dL respectivamente), sendo que nenhuma média apresentou uma diferença maior do que 5,55 mg/dL no caso do cálcio(KELLY et al., 2015-média de 7,6 mg/dL) e que 1,98 mg/dL no caso do fósforo(KELLY et al., 2015- média de 6,81 mg/dL)(Tabela 12).

A queda na média geral da FA ocorreu justamente no início do outono, entre abril e maio, o mais provável é que a saída da época reprodutiva tenha contribuído para esta discrepância, como o metabolismo ósseo é responsável por manter os níveis de cálcio e fósforo na circulação era esperado que este diminuísse quando estes minerais não são mais necessários para produzir os ovos (Tabela 3).

A concentração de FA variou significativamente entre todas as estações. É possível notar um padrão onde as estações mais quentes, primavera e verão, possuem resultados significativamente mais altos a que as estações mais frias, outono e inverno. O fato da estação reprodutiva se situar na primavera e no verão provavelmente contribuiu para esta variação ter ocorrido. As fêmeas provavelmente tiveram que aumentar seu metabolismo ósseo nestas épocas com o objetivo de liberar cálcio e fósforo para produzir ovos e consequentemente a FA apresentou resultados mais altos justamente nesta época. (Tabela 4).

Porém os resultados apresentados nas tabelas 5, 9 e na figura 29 mostram que os resultados de FA dos machos diminuíram no mesmo momento das fêmeas, entre o verão e outono ou seja, aparentemente a interrupção da produção de ovos não foi o único fator que causou a queda nos resultados de FA nesta época, pois se fosse apenas este fator os machos não apresentariam esta diminuição no mesmo momento que as fêmeas. A literatura afirma que a FA é amplamente distribuída pelo corpo dos reptéis (CAMPBELL 2012b), então é provável que ela não reflita apenas a atividade óssea. Inclusive os jabutis

machos deste estudo apresentaram uma diminuição das enzimas hepáticas, ALT e AST, em momentos semelhantes à diminuição que ocorreu na FA, entre abril e maio (Tabela 9), então é possível que a atividade desta enzima também seja influenciada pelo metabolismo hepático.

Machos e fêmeas apresentaram variações sazonais semelhantes para os resultados de FA, ambos os sexos apresentaram seus maiores resultados no verão e seus menores resultados no inverno, assim tudo indica que não é apenas a produção de ovos e o metabolismo ósseo que estão influenciando os resultados de FA. Pois se fosse este o caso haveria mais discrepâncias entre as variações de cada sexo (Tabelas 5 e 6)

As fêmeas tiveram resultados significativamente maiores que os machos nos meses de janeiro a maio (exceção abril) e nos meses de novembro e dezembro, meses que as fêmeas estavam em época reprodutiva ou saindo desta, evidenciado pelas diferenças entre os sexos que ocorreram para os resultados de triglicerídeos, proteína plasmática, ureia, entre outros. Ou seja, as diferenças entre os sexos nestes casos estão relacionadas a produção de ovos (Tabela 9)

O cálcio apresenta valores mais altos nos meses de outubro, novembro, dezembro e janeiro (na primavera e no início do verão- Tabela 3), esta variação provavelmente ocorreu por causa da época reprodutiva. A literatura descreve que o estrogênio nas fêmeas causa aumento do cálcio plasmático, para produzir ovos (CAMPBELL 2012b). Porém não há variação significativa entre as estações mostrando que variação sazonal do cálcio é mínima em números absolutos (Desvio Padrão: 4,71 mg/dL Tabela 1)

Apesar da variação sazonal geral não ser significativa, quando cada sexo foi analisado separadamente as variações sazonais foram evidentes. Machos tiveram os resultados do outono maiores que o inverno, apesar de ser uma variação pontual é possível que ela esta relacionada a menor ingestão de alimentos no inverno (Tabela 5). Fêmeas tiveram seus maiores resultados de cálcio na primavera, na mesma época que ocorrem as maiores concentrações de triglicerídeos para este sexo. Assim provavelmente o aumento de cálcio plasmático ocorreu por causa da produção das cascas dos ovos (Tabela 6)

As diferenças significativas entre os sexos para os valores de cálcio ocorreram nos meses de julho, setembro, outubro, novembro e dezembro (Tabela 9), com as fêmeas apresentando médias mais altas em todas as ocasiões. Com exceção do mês de julho, todos os outros meses estão dentro da época reprodutiva (situada no verão e na primavera), evidenciada pelas concentrações de glicose e triglicerídeos neste período, então era esperado que as fêmeas apresentassem uma maior concentração geral de cálcio nestes momentos, devido ao estímulo do estrogênio (CAMPBELL 2012b).

Tartarugas cabeçudas (*C. caretta*) de vida livre apresentaram uma correlação positiva entre o cálcio e a temperatura da água. O autor justificou esta variação pelo fato do alimento ser mais abundante quando a temperatura da água estava maior (KELLY et al., 2015).

É possível que algo semelhante tenha ocorrido nos jabutis que tenderam a apresentar uma maior concentração de cálcio nas estações quentes (Tabela 3), principalmente as fêmeas (Tabela 6) ; porém, como não há variação significativa entre as estações, o sexo parece influenciar mais na variação do cálcio que o ambiente em si.

Os resultados gerais do fósforo praticamente não variaram entre as estações (Tabela 4). Porém houveram variações sazonais significativas quando cada sexo foi analisado individualmente

Machos apresentaram suas menores concentrações de fósforo no outono e maiores no verão, esta variação para ter ocorrido por causa da variação na alimentação. Como já estabelecido os jabutis aparentemente comeram menos nas estações frias, então é possível que esta menor concentração seja pelo fato deles terem ingerido menos fósforo no outono quando sua ingestão de alimento como um todo foi menor (Tabela 5)

Nas fêmeas a variação sazonal do fósforo foi mais discreta, havendo apenas variação significativa entre o outono e a primavera, os resultados da estação mais quente foram maiores que a mais fria, então é possível que isso tenha ocorrido pelo mesmo motivo da variação dos machos. Outra possibilidade seria que o fósforo estivesse acompanhando a variação do cálcio já que estes dois minerais costumam manter um equilíbrio (CAMPBELL 2012b).

As diferenças significativas entre os sexos que ocorreram em quase todos os meses de análise, podem ser justificadas pelas fêmeas terem um metabolismo ósseo mais ativo por causa da produção de ovos, por este motivo precisam ter mais fósforo na circulação para equilibrar a maior quantidade de cálcio (Tabela 9).

Christopher et al 1999; Dickinson et al., 2002; Zaias et al., 2006; Chaffin et al., 2008 compararam a concentração fósforo entre machos e fêmeas em outras espécies de quelônios e encontraram que fêmeas possuem valores mais altos deste parâmetro e da mesma forma que esta tese relacionou esta variação com a produção de ovos das fêmeas.

7. CONCLUSÕES

Os valores obtidos podem ser utilizados como valores de referência para espécie.

Os resultados do eritrograma (Hb) e dos exames bioquímicos relacionados ao metabolismo proteico (ALT, Proteína Plasmática Total) se apresentaram mais baixos nos meses onde ocorreram temperaturas médias e precipitação pluviométrica baixas.

Na época reprodutiva, no período de primavera e verão ocorrem as maiores variações sexuais. Foi neste período que os machos apresentaram seus maiores valores de glicose e as fêmeas apresentaram os maiores valores no eritrograma, suas maiores concentrações de Proteína plasmática, ureia, AST, triglicerídeos, FA e cálcio e seus menores resultados de glicose.

O ambiente e o sexo exerceram influência considerável nos resultados do hemograma e dos exames bioquímicos. O que ressalta a importância que considerarmos estes fatores ao interpretar estes exames nesta espécie.

8. BIBLIOGRAFIA

ANDREANI G.; CARPENÈ E.; CANNAVACCIULO A.; GIROLAMO N. D., FERLIZZA E.; ISANI G. Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's

tortoises(*Testudo hermanni ssp.*). Veterinary Clinical Pathology. v. 43,n. 4 p. 573-583. 2014

ALMOSNY N. R. P. Patologia clínica em Vertebrados Ectotérmicos,. In: CUBAS Z. S.; SILVA J.C.R. CATÃO-DIAS J. L. Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária. 2 ed. São Paulo: Roca LTDA, 2014. chap. 84. p. 1597-1623

ALMOSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia clínica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária. São Paulo: Roca LTDA, 2007.chap 59 p. 939-966

BATES D.; MÄCHLER M. M.; BOLKER B. M.; WALKER S. C. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. Journal of Statistical Software p. 1-51. 2014

BIELLI M.; NARDINI G.; GIROLAMO N. D.; SAVARINO P. Hematological values for adult eastern Hermann's tortoise (*Testudo hermanni boettgeri*) in semi-natural conditions. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. v. 27. n.1 p. 68 –73. 2015.

BIOCLIN. Minas Gerais, 2014. Disponível em:< <http://www.bioclin.com.br>>. Acesso em: 23 jul.2014

BOYER, T. H.; BOYER, D. M. Turtles, tortoises and terrapins. In: MADER, D. R. Reptile medicine and surgery. 2. ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2006. chap.7 p. 78-99.

BRYANT, G. L.; FLEMING, P. A.; TWOMEY, L.; WARREN, K. A. Factors affecting hematology and plasma biochemistry in the Southwest Carpet Python (*Morelia spilota imbricata*). Journal of Wildlife Diseases, v. 48, n. 2, p. 282-294, 2012.

BUSSAB, W.; MORETTIN P. Inferência para Duas Populações. In:____ Estatística Básica, 5. ed. São Paulo Editora Saraiva. 2002. p. 355-388.

CAMPBELL, T. W. Hematology of Reptiles. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2. ed. . Ames IO: John Wiley & Sons, Inc, 2012a.chap. 20 p. 277-296.

CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of reptiles. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2. ed. Ames IO: John Wiley & Sons, Inc, 2012b. chap.36 p. 599-606.

CELM. Barueri, 2014. Disponível em: < <http://www.celm.com.br/>>. Acesso em: 25 jun.2014

CHAFFIN, K.; NORTON, T. M.; GILARDI, K.; POPPENG, R.; JENSEN, J. B.; MOLER, P.; CRAY, C.; DIERENFELD, E. S.; CHEN, T.; OLIVA, M.; ORIGGI, F. C.; GIBBS, S.; MAZZARO, L.; MAZETCHAFFIN, J. K. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 44, n. 3, p. 670-686, 2008

CHRISTOPHER, M. M.; BERRY, K. H.; WALLIS, I. R.; NAGY, K. A.; HENEN, B. T.; PETERSON, C. C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave desert. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 35, n. 2, p. 212–238, 1999.

COSTA-NETO, E. M. Healing with animals in Feira de Santana City, Bahia, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 65, p. 225-230, 1999

CUBAS, P. H.; BAPTISTOTTE, C. Chelonia (Tartaruga, Cagado, Jabuti). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária*. 1 ed. São Paulo: Roca LTDA, 2007. cap.9 p. 86-119.

DICKINSON V. M.; JARCHOW J. L.; TRUEBLOOD M. H. Hematology and Plasma Biochemistry Reference Range Values for Free-ranging Desert Tortoises in Arizona. *Journal of Wildlife Diseases*, v 38, n 1, p143-153, 2002

DUTRA G.H.P. Testudines (Tigre d'água, Cágado e Jabuti), In: CUBAS Z. S.; SILVA J.C.R.; CATÃO-DIAS J. L. *Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária*. 2 ed. São Paulo: Roca LTDA, 2014 cap.16 p. 219-258

EHSANPOUR M.; AHMADI M. R.; BAHRI A. H.; AFKHAMI M.; REICH K. J. Plasma biochemistry values in wild female hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*), during nesting and foraging seasons in Qeshm Island, Persian Gulf. *Comp Clin Pathol* disponível em < <http://www.elearnica.ir/>> Acesso em: 9 fev 2016

EBRAM. São Paulo, 2014. Disponível em: < <http://www.ebram.com/>>. Acesso em: 23 jul.2014

FARIAS, I. P.; JEROZOLIMSKI, A.; MELO, A.; VIANA, M. N.; MARTINS, M.; MONJELÓ, L. A. S. Population genetics of the Amazonian tortoises,

Chelonoidis denticulata and *C. carbonaria*, (Cryptodira: Testudinidae) in an area of sympatry. *Amphibia-Reptilia*, v. 28, p. 357-365, 2007

FUJISAKI, I.; HART, K. M.; MAZZOTTI F. J.; RICE K. G.; SNOW S.; ROCHFORD M. Risk assessment of potential invasiveness of exotic reptiles imported to south Florida *Biol. Invasions*, v. 12, p. 2585-2596, 2010

INMET INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA- 7º DISME DISTRITO DE METEOROLOGIA Estação Avaré. São Paulo 2016 Disponível em:< <http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em 04 mar.2016

INTERTECK KATAL., São Paulo 2014. Disponível em: < <http://www.interteck.com.br/>>. Acesso em: 23 jul. 2014

ITTSJ International Turtle and Tortoise Society Journal v 2 p 4-5, 1968

KELLER K.A.; GUZMAN D.S.; PAUL-MAURPHY J.; BYRNE B. A.; OWENS S. D.; KASS P. H.; WEBER S. Hematologic and Plasma Biochemical Values of Free-Ranging Western Pond Turtles (*Emys marmorata*) with Comparison to a Captive Population. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*. v. 22, n. 3-4, p. 99-106, 2012

KELLY T. R.; MCNEIL J.B.; AVENS L.; HALL A.G.; GOCHÉ L.R.; HOHN A.A.; GODFREY M.H.; MIHNOVETS A. N.; CLUSE W.M.; HARMS C. A. Clinical Pathology Reference Intervals for an In-Water Population of Juvenile Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in Core Sound, North Carolina, USA. *PLoS ONE*. v.10, n.3, p.1-13, 2015.

LABTEST Minas Gerais 2014. Disponível em: < <http://www.labtest.com.br>>. Acesso em: 06 nov. 2014

MACHADO, C. C.; SILVA, L. F. N.; RAMOS, P. R. R.; TAKAHIRA, R. K. Seasonal influence on hematologic values and hemoglobin electrophoresis in Brazilian *Boa constrictor amarali*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 37, n. 4, p. 487-491, 2006.

MURRAY M. J. Cardiopulmonary Anatomy and Physiology In: Mader D. R. *Reptile medicine and surgery*. 2 ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2006, chap.10, p.124-134

OMAR E.; HERNÁNDEZ P. Reproducción y Crecimiento del Marrocoy, *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) (Reptilia Testudinidae), BIOLLANIA v.13 p. 165-183, 1997

PEEL M. C.; FINLAYSON B. L.; MCMAHON T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. Hydrology and Earth System Sciences v. 11 p. 1633–1644, 2007

ROVIRA A. R. I. Hematology of reptiles. In: WEISS, D. J.; WARDDROP, K. J. Scham's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009. chap. 127, p. 1004-1011.

SILVA-SOARES, T.; FERREIRA, B. R.; SALLES, R. O. L. ; ROCHA C. F. D. Continental, insular and coastal marine reptiles from the municipality of Vitória, state of Espírito Santo, southeastern Brazil. Check List Journal of species lists and distribution, v. 7, n. 3, p. 290-298, 2011

SIMPAR SISTEMA METEORÓLOGICO DO PARANÁ SIMEPAR 2016 ®. Disponível

em<http://www.simepar.br/site/internas/conteudo/meteorologia/estacoes_ano.s.html> Acesso em: 7 mar. 2016

SYKES, J. M.; KLAPHAKE E. Reptile Hematology. Vet. Clin. Exot. Anim, v.18 p.63-82, 2015

STACY, N. I.; ALLEMAN, A. R.; SAYLER, K. A. Diagnostic hematology of reptile. Clinics in Laboratory Medicines, v. 31, p. 87-108, 2011.

STRONG, J. N.; FRAGOSO, J. M. V. Seed dispersal by *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* in Northwestern Brazil. Biotropica, v. 38, n. 5, p. 683-686, 2006.

TEARE, J.A. Chelonoidis carbonaria no selection by gender All ages combined standard international units 2013 CD.html in ISIS Physiological Reference Intervals for Captive Wildlife: A CD-ROM Resource. Bloomington: International Species Information System, 2013.

THRALL, M. A. Classification of and diagnostic approach to anemian: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2. ed. . Ames IO: John Wiley & Sons, Inc, 2012. chap. 6, p. 75-80.

TVEDTEN, H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: WEISS, D. J.; WARDDROP, K. J. Scham's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009. chap.24 p. 152-161.

VIEIRA S. Introdução à Bioestatística 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 360p.

WEISER G. Laboratory Technology for Veterinary Medicine In: THARALL M. A.; WEISER G.; ALLISON R. W.; CAMPBELL T. W. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2. ed. . Ames IO: John Wiley & Sons, Inc Jon 2012, chap. 1 p. 3-33

ZAIAS, J.; NORTON, T.; FICKEL, A.; SPRATT, J.; ALTMAN, N. H.; CRAY, C. Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherine's Island, Georgia. Veterinary Clinical Pathology, v. 35, n. 3, p. 321-325, 2006.

9. Trabalho Científico

Seasonal evaluation of the hematologic and biochemical parameters of red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria*)(Spix, 1824)

Bruno C S Bergamini, Brayan S L Castañeda, Lygia K S Francelino, Ramiro D Neto, Victor Yunes Guimarães, Paulo R R Ramos, Carlos A Teixeira, Raimundo S Lopes,

Background: The red-footed tortoise is one of the most attended species by veterinarians of wild animals. As in other species of chelonians, the detection of clinical signs is subjective and there are no hematological or biochemical references for the understanding of pathological processes.

Objectives: Obtain laboratorial ranges that can help the clinical care, contribute to the establishment of reference values for this species and verify the seasonal and sexual influences over these parameters.

Methods: Blood samples were monthly harvested from a group of 29 tortoises during twelve months. Complete hemograms and biochemical evaluation of the plasma were performed. Reference intervals were determined and the influence of the moments of harvest and genders was evaluated.

Results: Typical erythrocytes and leukocytes of chelonians were observed on the smears. The values of RCB, HCT and HGB were larger in males than in females, except in the last four months of analysis. Both genders presented lower levels of leukocytes in the last three months of analysis and higher levels of cholesterol between April and September. Males presented higher results than females in the parameters related to the protein metabolism, while females presented higher results in the rates related to the egg production.

Conclusion: The obtained results can be utilized as values of references for the red footed tortoises. The season and the gender influenced in the results of the hemograms and biochemical exams, highlighting the importance of considering these factors when interpreting the exams of this species.

Keywords: Erythrogram, leukogram, chelonians, seasonality, gender variations, normal values.

Introduction

The red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria* Spix 1824) is a species of chelonian with wide distribution in the Brazilian territory. For being considered a pet animal and being common in zoos and trial centers, this species is much attended by veterinarians.^{1,2,3}

The hematological analysis is particularly important in the chelonians to evaluate their health status, once these animals do not tend to evidentiate specific clinical signs. The values of reference for this species are scanty and hematological and biochemical parameters suffer influence of intrinsic factors such as gender and reproductive status, and extrinsic factors such as seasons of the year, collection method and sample analysis. Studies have showed how these factors interfere in the laboratorial analysis of the blood for other species of chelonians. However, no studies that specifically evaluated the red-footed tortoise were found. The previous studies collected only one sample for season, making it hard to evaluate whether the alterations found were a reflection of the environment and gender or only caused by the circumstances of the sampling.^{4, 6, 7, 8}. In order to effectively evaluate the influence of the environmental and sexual factors over the hematological parameters of the species, many blood samples of the same season and involving both genders would be necessary.

The objectives of this study, therefore, were: (1) Obtain laboratorial values that can help in the attendance of individuals *Chelonoidis carbonaria* and contribute to the establishment of reference values for the species and (2) verify the seasonal and sexual interferences over the biochemical and hematological parameters in the group of animals sampled over twelve months, under experimental condition.

Materials and methods

Area of Study

Climatological and pluviometric data of the region of Botucatu in the year of 2015 were gathered with the collaboration of the Instituto Nacional de Meteorologia (Nacional Institute of Meteorology) (INMET). The measurements were made in the INMET base closer to Botucatu, the base of Avaré-SP.⁹

These information showed that the climate of the region is humid temperate with dry winter and hot summer (Cwa), according to the climate classification of Köppen-Geiger¹⁰.

According to the Sistema Meteorológico do Paraná (Meteorological System of Paraná) (Simepar), the changes of season in Brazil occur in the solstices and equinoxes¹¹. The specific dates in which the changes of the seasons occurred in the country, in 2015, were: from summer to fall on March 20th; from fall to winter on June 21st; from winter to spring on September 23rd and from spring to summer on December 22nd. Based on these dates, it was determined that each season of analysis would be composed of three moments of sampling. Thus, the period of analysis was divided the following way: Samples from January to March would correspond to samples of the summer; samples from April to June would correspond to the samples of the fall; samples from July to

September would correspond to samples of winter and samples from October to December would correspond to the samples of spring.

Animals and blood collection

Twenty nine adult red-footed tortoises from captivity were part of this experiment, located in two different places: Centro de Medicina e Pesquisa de Animais Selvagens (Center for Wildlife Medicine and Research) (CEMPAS) from the Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science) (FMVZ), in Universidade Estadual Paulista(São Paulo State University) (UNESP), campus Botucatu and in the Centrofauna do Instituto Flora Vida(Fauna Center of the Life Flora Institute) , also in the city of Botucatu, São Paulo, Brazil. The animals came from distinct origins and not all of them were born in captivity, which is why the age of the individuals was only estimated. The animals were kept in open enclosures, exposed to sunlight and wind. In the enclosures there were another tortoises that did not take part in the experiment. There were also other species of chelonian, like the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*), the D'Orbigny slider (*Trachemys dorbigni*), and yellow-footed tortoise (*C. denticulata*) which are differentiated animals from the other congener species according to manometric criteria.¹². The animals received a diet composed by many types of fruits and vegetables and water *ad libitum*.

In order to guarantee that only the healthy animals would be utilized, all the tortoises were clinically evaluated and had their hematological and biochemical parameters analyzed before the beginning of the experiment.

The blood samples were collected monthly between January and December of 2015. The animals were physically restrained and had their blood collected by venipuncture of the jugular vein. A volume of 2,0 mL of blood was harvested using syringes of 3,0 mL,

connected to 0,55 x 20mm (24G) needles. At the minimum sign of contamination with lymph, the harvest was then repeated. Immediately after the obtainment of the sample, the blood smears were prepared with one drop of blood without anticoagulant¹³. Then, the sample was divided into two tubs, one containing lytic heparin (a 1 mL microtube and a 4mL Vacuette tube). That way, two samples were obtained. One of the samples was used for the hemogram, while the other one was used for biochemical evaluations. At last, the animals were weighed and taken back to their original enclosures.

All the procedures were approved by the Comissão de Ética no Uso de Animais (Ethics Committee on Animal Use) (CEUA) of the University and Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation) (ICMBio), authorization 49615-1.

Hematology

All the hematological analyzes were performed from the samples collected in microtubes. The total counting of erythrocytes and leukocytes (RBC and WBC) were obtained by manual counting in Neubauer chamber with Natt-Herrick diluent (1:100). The globular volume (HCT) was determined by the micro-hematocrit technique¹³. The hemoglobin concentration (HGB) was determined by the method of cyanometahemoglobin¹⁴. The blood smears were colored with Rapid stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin) and utilized in the estimated counting of leukocytes and thrombocytes. The means of leukocytes and thrombocytes per field were performed in ten fields. Leukocytes and thrombocytes were counted with the lens of 400x and 1000x, respectively. Afterwards, the means were multiplied by the following factors: 1500 (leukocytes) and 3500 (thrombocytes).^{13, 15, 16}

The estimative of leukocytes was used to check the value obtained in the Neubauer chamber and the estimative of thrombocytes was used as a parameter to evaluate the total concentration of this cell lineage. The blood smears were also used in the differential counting of leukocytes and in the morphological counting of the cells. These analysis were performed in optic microscope with magnification power of 1000x.^{13, 17} To the differential counting of leukocytes, the following cell types were considered: Heterophils, Eosinophils, Basophils, Lymphocytes, Monocytes and Azurophils.

Clinical Biochemistry

The samples of the 4,0 mL tube were centrifuged (PowerSpin[®] VX Centrifuge Unico[®]) at 3000 rpm for 10 minutes for the obtainment of plasma with heparine and frozen at -20°C. In a later period, the samples were unfrozen for the biochemical analysis.

The biochemical tests of the plasma were performed in an automated biochemical analyzer (Roche®- Cobas Mira Plus), using commercial reagents. The analyzed parameters were: AST, ALT and CK, which were determined by the kinetic method; the ALP, determined by the p-Nitrophenylphosphate method¹⁸; the uric acid, determined by the colorimetric enzyme assay, UOD-PAP¹⁹; the urea, determined by the cinetic assay; the glucose, determined by the colorimetric enzyme assay²⁰; total cholesterol, determined by the colorimetric enzyme assay, cholesterol oxidase peroxidase method; the triglycerides, determined by the colorimetric enzyme assay, GPO Peroxidase; the Total Plasma Protein by the colorimetric method, biuret; the calcium, determined by the colorimetric method, Arsenazo III¹⁸; the phosphorus by the Molibdate method²⁰.

Statistical Analysis

A descriptive statistic of the data was performed. The variables were submitted to the Kolmogorov-Smirnov test to determine their normality and combiality^{21, 22}. Afterwards, the variations by month and season were analyzed with the mixed model method through the software R version 2.12.2.²³. The *T* test was used to compare the genders when both of them showed results with normal distribution. When at least one of the genders showed results with abnormal distribution (non-parametric results), the Mann Whitney test was used²¹.

Results

Animals and environment

Twenty-nine animals were included in this research (15 males and 14 females). It was possible to collect a sample of satisfactory volume from the jugular vein. There were no significant differences between the genders regarding the weight, which varied between 2,36 and 7,98 kg (Table 1). According to the data provided by the INMET, the annual thermal amplitude varied between 17, 3°C and 24,8°C and the monthly total pluviometric precipitation varied between 11,2 mm and 404,8 mm.⁹

Hematology

It was possible to perform the hemogram in all the tortoises during all the months of harvest. Many blood smears presented thrombocyte aggregation, probably due to the long time between the collection and the smear confection. For this reason, it was not possible to perform the estimate counting of thrombocytes. Considering that the aggregation present in the samples with heparin makes it impossible to count the

thrombocytes with exactitude in the Neubauer chamber, it was not possible to obtain values of thrombocytes counting in these cases.

In some specific exams, some tortoises presented aberrant results, which were excluded from the analysis to avoid interference.

At the microscopic examination of the blood extensions with rapid stain, the following characteristics were found in the cells. Erythrocytes presented oval shape, centered nucleus with condensed chromatin and cytoplasm presenting acidophilic or green coloration. The heterophils presented eccentric nucleus without segmentation, cytoplasm with eosinophilic granules in fusiform shape. The eosinophils presented nucleus without segmentation, cytoplasm with eosinophilic granules (darker in comparison to the heterophils') with round shape. The basophils presented variable size and showed nucleus without segmentation and cytoplasm with small basophilic granules. The lymphocytes were found in different sizes, presenting large nucleus with thin chromatin, high rate nucleus/cytoplasm and slightly basophilic cytoplasm. The monocytes were characterized by large cells with pleomorphic nucleus and cytoplasm, which was abundant, slightly basophilic and sometimes vacuolated. The azurophils presented pleomorphic nucleus and cytoplasm, which was also abundant and basophilic and showed thin azurophilic granules. The thrombocytes were small cells, which presented high rate nucleus/cytoplasm, colorless cytoplasm, and shape varying from oval to fusiform.

Between the months of sampling, there was significant variance ($p < 0,05$) for all the hemogram parameters, except for absolute eosinophils. However, the variances considered less punctual and, therefore, more pertinent to the physiology of the animals, occurred between the seasons of the year and between the genders.

According to the statistical analysis by season, the results of hemoglobin concentration (HGB) in spring were significantly higher than the results at Summer and Fall (Table 2). The MCV and the MCHC also presented significant variances between the seasons (Table 2).

According to the *T* test, the females showed significantly lower values ($p < 0,05$) of HCT in all the months of analysis, except in the last four months of the year (September to December) (Table 5). Something similar occurred to the results of HGB: the females had significantly lower results than the males for this parameter between January and June (with exception of February). Females also showed lower RBC than the males between the months of April and July (Table 5).

Also according to the same test, there were punctual months in which the females showed significantly higher levels in some types of leukocytes than the males. Those situations were: Eosinophils from January to March, Monocytes in April, May and September and azurophils in August. Males presented higher levels of eosinophils than females in June and higher level of azurophils in December (Table 6).

The global counting of total leukocytes (WBC) at spring was significantly lower than at other seasons. The results of heterophils were greater at summer, when they were significantly higher when compared to all the other seasons (Table 3). The numbers of lymphocytes were higher at winter, when the results were significantly higher than the results of other seasons (Table 3). The other types of leukocytes had punctual variations between the seasons. Basophils levels were significantly higher at spring (Table 3).

Monocytes and azurophils levels also presented variations between the seasons, however, these cells were always in low quantity in the differential counting, making it difficult to know whether these variations were clinically relevant (Table 3).

The reference range was calculated and statistical analysis were performed for all the cited parameters, except for the thrombocytes estimative, because of the thrombocytic aggregation that occurred in many samples. In this parameter, only a descriptive statistical analysis was possible during the harvest moments.

Clinical Biochemistry

Significant variations ($p < 0,05$) between the months of sampling occurred for all the biochemical parameters, however, these were considered very punctual. The most pertinent variations occurred between the seasons and the genders.

Such the seasons as the gender influenced the variation of the plasmatic parameters. The total plasma protein and the uric acid showed results progressively higher along the analysis period (Table 4). The urea results presented significant variation only between summer and winter, being that the results at winter were higher than at summer (Table 4). The ALT presented higher results at spring and lower results at fall (Table 4), while the CK presented its lower levels at spring (Table 4). ALP presented significant lower results at the coldest seasons, fall and winter (Table 4). Glucose presented its lower results at fall and the higher ones at summer. The cholesterol presented its higher results at cold seasons, fall and winter, but especially at winter (Table 4). The other parameters did not vary in a relevant way during the seasons.

Females presented lower levels of total plasma protein in comparison to the males, during the twelve months of analysis, except the last two (November and December) (Table 7). Males presented higher urea and AST results than the females. This difference was accentuated between April and August regarding the urea results, between March and May and in July regarding the AST results, being that in this period it occurs significant statistical differences between the genders (Table 7).

Regarding the uric acid, males and females presented significant differences in the months of April, July, August, November and December. In July, November and December, the females presented higher ranges than the males, but in the other months, the opposite occurred. The ranges were particularly discrepant in July, in which the females presented a much higher range than the males (Table 7).

Females presented higher cholesterol levels, triglycerides and phosphorus during practically all the months of analysis (Table 7). Females presented a significant lower concentration of glucose in the two first months and in the last four months of analysis.

Regarding the triglycerides values, both genders varied in an opposite way during the analysis period (Figure 2B). The females tended to show higher levels of FA and calcium than the males. The greater differences between genders for the FA values were found between January and May and between November and December, while the greater differences occurred in July and between September and December (Table 7). The other biochemical parameters did not showed relevant differences between the genders.

Discussion

The results presented in this study provide references to the species and will help in the interpretation of laboratorial exams of the individuals. Besides proving that the seasonality and gender influenced the hematologic and biochemical results, this study provides a complete background of how the seasonal and sexual variations occurred during one year with monthly collections.

Hematology

The Red-footed tortoises presented a variable counting of erythrocytes. Despite the result never having exceeded 1.000.000 erythrocytes, many animals presented discrepancy between the months. In consequence, the MCV showed a large interval, varying in two hundred unities, even not showing anisocytosis in the smear.

The global leukocyte counting (WBC) of these tortoises was less variable than the counting of erythrocytes. They usually presented heterophils as the most predominant cells in the differential counting, followed by lymphocytes. Besides, some individuals presented more lymphocytes than heterophils in the differential counting.

Regarding the morphology of leukocytes, the basophils were the cells that presented greater variation in the shape, size, and in the quantity of granules. Monocytes and azurophils also presented great variation of size and shape, but the monocytes usually were in greater number than azurophils.

The rapid stain coloration (Quick Panoptic® IB: Laborclin) was efficient to analyze the leukocytes of this species. The obtained values were similar to the ones presented by other species of chelonians.^{4,6,7,8} Each type of leukocyte was identified according to its morphologic characteristics. The analysis allowed differentiation between heterophils and eosinophils and between monocytes and azurophils. These cells can present many similar characteristics that are hard to differentiate if the coloration is not suitable.

The fact that there are significant variations between the months for all erythrocytic parameters and between seasons for the results for hemoglobin concentration, MCV and MCHC, shows that the environment interfered in the erythrogram of tortoises, mainly in females, as it is showed in the bar graphs of RBC, HGB and HCT (Figure 1). However, the variations between the seasons in absolute numbers were not very large. For example, in the ranges of HGB at fall and spring, there was a difference of only

0,5g/dL. Therefore, it is possible that the seasonal variations of the erythrocyte parameters did not interfere in the clinical status of the animal.

The significant difference between the genders proves the interference of this factor on the erythrocytic parameters. In a general way, the results of males and females for RBC, HGB and HCT were similar in the hottest periods of the year, that is, at summer and spring, the three first and the three last months of the year, respectively. The reproductive season occurs at these seasons, therefore, it is likely that this is the reason for the similarity of the results^{24,25}. The females increased their erythrocytic metabolism during the reproductive season probably due to the consequent egg production, characterized by an increase in the results of red blood cells.

The general decrease of WBC at spring indicates a diminution of the immune stimuli by that time. However, the generalized mean and the interval obtained in this season show that the animals were not immunosuppressed.

Based on the biochemical results, it is possible to formulate two hypothesis to justify this situation. The first one is that the total cholesterol level decreased and the plasma protein level increased at the same time. That indicates that the animals fed more, what could have let their immune system more active. For that reason, they showed a more efficient response to pathogenic stimuli, which is why the results were lower than the ones of other seasons⁴.

The other hypothesis is based on the fact that the CK decreased at the same time, which indicates a decrease in the stress of the harvest, something that influence the leukocytes directly, that way contributing to lower results.²⁶

The heterophils presented higher levels at summer and a possible reason for that would be that, at summer, the animals can suffer with thermal or reproductive stress, leading to an increase of these cells. On the other hand, at fall, when the average temperature

decreases and the reproductive season ends, it may have occurred a decrease in the stress levels and, consequently, in the number of heterophils.^{13,24,25}

Caretta caretta of wild life presented a significant increase of heterophils levels during fall. The author associated this change to the population sampled during fall, which contained migrant individuals. According to the author, these migrant animals were exposed to a higher level of stress due to the migration. The Red-footed tortoises presented a higher number of heterophils during summer, probably due to thermal or reproductive stress. In both studies there was an increase of heterophils levels apparently caused by stress.⁸

The lymphocytes presented higher results at winter. That indicates that probably the immune stimuli is higher at winter, which would lead to an increase in the number of lymphocytes for reaction.¹³

The differences between the genders in the results of total and differential counting of leukocytes were very punctual and, most of the times, occurred only in the types of leukocytes whose absolute numbers were low, like monocytes and azurophils. This way, it might be said that in the leukocytary parameters the sexual variations were less significant than the seasonal ones.

Clinical Biochemistry

The Red-footed tortoises presented some particularities regarding the biochemical parameters. They have two final products of the protein metabolism: urea and uric acid. Despite these two have varied along the period of study, the urea level was always higher than the level of uric acid. Regarding the enzymatic activity of the liver, these animals presented a low concentration of ALT in plasma, so much that, in many cases, the concentration of this enzyme was so low that it could not be detected by the

spectrophotometer. In the tortoises, the AST was the enzyme present in the hepatic metabolism with higher concentration in plasma. The tortoises also showed particularly variable plasmatic concentrations of glucose and triglycerides, mainly between genders. The total plasma protein, the uric acid and ALT showed higher values in the end of the analysis period, at spring, suggesting a progressive increase in the hepatic protein metabolism during the period of analysis.

The fact that the fall and winter are characterized by low concentrations of glucose and high concentrations of cholesterol indicates a global decreasing in the food consumption in this season and higher use of fat reserves, once there is production of cholesterol when there is consumption of triglycerides. That is interesting, considering these tortoises live in captivity and the same amount of food was offered during all the period of analysis. Therefore, during the coldest seasons, the individuals decreased their ingestion of food, which probably occurred due to a decrease in the general metabolism, like evidenced by the low concentrations of enzymes like ALT and low values of red cells (RBC, HGB and HCT).

This general decrease in the metabolism in cold seasons was already observed in many other chelonians species, like *Gopherus agassizii*. However, this species presented low results of cholesterol during cold seasons. The fact that *G. agassizii* hibernates during these seasons, which is something the *C. carbonaria* does not do, may have contributed to this discrepancy between the species^{4, 26}.

In a general way, males presented higher levels than the females for the biochemical parameters related to the protein metabolism (total plasma protein, urea and AST, with exception of uric acid). Meanwhile, the females presented higher values than males for the biochemical parameters related to the egg production (cholesterol, triglycerides, ALP, calcium and phosphor).

Studies involving other species of chelonians found similar results regarding the sexual, cholesterol and triglycerides variations. Females of *G. agassizii*, *Geochelone radiata* and *Macrochelys temminckii* also presented high values of cholesterol and triglycerides in relation to the males.^{4, 6, 7, 26}

Glucose and triglycerides showed a very distinct variation between the genders along the period of analysis and in relation to the reproductive period (situated at summer and spring for this species). Females presented a variation of these metabolites influenced by the egg production. By the reproductive period, females presented higher concentrations of triglycerides, for this is one of the main compounds of yolk, and presented lower concentrations of glucose, because of the high energy spent to produce the eggs.⁶ On the other hand, males presented a variation of these metabolites in function of a higher food consumption. During the hot seasons (summer and spring), the males presented a higher concentration of glucose, which indicates that they were feeding more. For this reason, their fat reserves were less used, decreasing the plasmatic concentration of triglycerides. Out of the reproductive period, both genders presented less discrepant concentrations of glucose and triglycerides.

Conclusion

The hematological and biochemical values obtained in the blood of Red-footed tortoise (*Chelonoidis carbonaria*) can be used as values of reference for this species. Such the seasonality as the genders influenced the results of hemogram and biochemical exams. This fact highlights the importance of considering these factors when interpreting the exams in this species. These data contribute to a better understanding of the physiology of *C. carbonaria*, which means that laboratories and clinicians that work with medicine and research of chelonians can use them. It was observed that the lack of

standardization of methods and the obstacles that the blood analysis imposes bring difficulties to the comparison between the species of chelonians and to the establishment of reference values.

References

1. .Farias IP, Jerozolinski A, Melo A, Viana MN, Martins M, Monjeló LAS. Population genetics of the Amazonian tortoises, *Chelonoidis denticulata* and *C. carbonaria*, (Cryptodira: Testudinidae) in an area of sympatry. *Amphibia-Reptilia*, 2007;28:357-365
2. Fujisaki I, Hart KM, Mazzotti F J , Rice KG, Snow S, Rochford M. Risk assessment of potential invasiveness of exotic reptiles imported to south Florida. *Biol. Invasions*. 2010;12:2585-2596
3. Dutra GHP. Testudines (Tigre d'água, Cágado e Jabuti) Testudines(turtle and tortoise) In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL, Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária(Treaty of Wild Animals: veterinary medicine). 2nd ed. São Paulo, SP Roca LTDA; 2014 : 219-258
4. Christopher MM, Berry KH, Wallis IR, Nagy KA, Henen BT, Peterson CC. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave desert. *J Wildl Dis*. 1999;35:212–238.
5. Rovira ARI. Hematology of reptiles. In: Weiss DJ, Wardrop KJ Scham's Veterinary Hematology. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins, 2009: 1004-1011.

6. Zaias J, Norton T, Fickel A, Spratt J, Altman NH, Cray C. Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherines Island, Georgia. *Vet Clin Pathol.* 2006;35:321–325.
7. Chaffin K, Norton TM, Gilardi K, Poppenga R, Jensen JB, Moler P, Cray C, Dierenfeld ES, Chen T, Oliva M, ORIGGI FC, Gibbs S, Mazzaro L, Mazetchaffin JK. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. *Journal of Wildlife Diseases,* 2008;44:670-686.
8. Kelly TR, Mcneil JB, Avens L, Hall AG, Goche LR, Hohn AA, Godfrey MH, Mihnovets AN, Cluse WM, Harms CA. Clinical Pathology Reference Intervals for an In-Water Population of Juvenile Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in Core Sound, North Carolina, USA. *PLoS ONE.* 2015;10:1-13
9. INMET . Instituto Nacional de Meteorologia - 7º Distrito de Meteorologia), Estação de Avaré-SP(Nacional Institute of Meteorology- 7º Meteorology District- Avaré- SP Station), ed. 2016 Available at <http://www.inmet.gov.br> Accessed March 04,2016
10. Peel M. C., Finlayson B. L., McMahon T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 2007;11:1633–1644.
11. Simepar Sistema Meteorológico do Paraná(Paraná Meteorological System). - SIMEPAR 2016 ®, ed 2016 Available at http://www.simepar.br/site/internas/conteudo/meteorologia/estacoes_ano.shtml Accessed March 7 2016
12. ITTSJ International Turtle and Tortoise Society *Journal* 1968;2: 4-5.

13. Campbell TW. Hematology of Reptiles. In: Tharall MA, Weiser G, Allison RW. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2nd ed. Ames IO John Wiley & Sons, Inc.; 2012: 277-296.
14. Labtest Minas Gerais Brazil ed. 2014 . Available at: <http://www.labtest.com.br>. Accessed November 06 2014
15. Almosny NRP, Monteiro AO, Patologia clínica(Clinical Pathology). In: Cubas Z S, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária(Treaty of Wild Animals: veterinary medicine).São Paulo SP: Roca LTDA; 2007:939-966
16. Sykes JM, Klaphake E. Reptile Hematology. Vet. Clin. Exot. Anim.2015;18:63-82
17. Almosny NRP. Patologia clínica em Vertebrados Ectotérmicos(Clinical Pathology in Ectothermic Vertebrates) ,. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL, Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária(Treaty of Wild Animals: veterinary medicine). 2nd ed. São Paulo, SP Roca LTDA; 2014:1597-1623
18. Ebram São Paulo Brazil, ed. 2014. Available at:<http://www.ebram.com>. Accessed July 23, 2014
19. Bioclin Minas Gerais Brazil, ed. 2014. Available at <http://www.bioclin.com.br>. Accessed July 23, 2014
20. Interteck Katal São Paulo Brazil, ed 2014. Available at <http://www.interteck.com.br>. Accessed July 23, 2014

21. Bussab W, Morettin P. Inferência para Duas Populações(Inference for Two Populations.. In: Bussab W, Morettin P. Estatística Básica (Basic Statistic) 5th ed. São Paulo SP Editora Saraiva. 2002: 355-388.
22. VIEIRA S. Introdução à Bioestatística(Introduction to Biostatistic) 4th ed. Rio de Janeiro RJ: Elsevier, 2008:360
23. Bates D.; Machler MM.; Bolker BM, Walker SC. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. Journal of Statistical Software 2014: 1-51.
24. Omar E, Hernández P. Reproducción y Crecimiento del Marrocoy, *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) (Reptilia Testudinidae) Reproductin and Growth of the Red Footed Tortoise *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824), Biollania; 1997;13:165-183
25. Cubas PH, Baptistotte C. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti)(Chelonia (Turtles and Tortoises)). In: In: Cubas Z S, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária(Treaty of Wild Animals: veterinary medicine).São Paulo SP: Roca LTDA, 2007:86-119.
26. Campbell TW. Clinical chemistry of reptiles. In: Tharall MA, Weiser G, Allison RW. Veterinary hematology and clinical chemistry. 2nd ed. Ames IO John Wiley & Sons, Inc.; 2012: 599-606.
27. Dickinson VM, Jarchow JL, Trueblood MH. Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona. J Wildl Dis. 2002;38:143–153.

Table 1 Reference intervals 95% (Maximum and Minimum), mean, standard deviation (SD) and median for CBC and plasma biochemical on *Chelonoidis carbonaria*

	N	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
Weight(Kg)	343	2.94	6.88	4.67	1.09	4.53
RBC($\times 10^6$ cel/ μ L)	343	0.36	0.68	0.52	0.08	0.52
HBG (g/dL)	343	4.27	8.30	6.13	1.02	6.10
HCT(%)	343	18.00	33.00	25.36	3.75	25.00
MCV (fl)	343	403.12	573.14	488.86	48.15	486.58
MCHC (g/dL)	343	19.73	27.83	24.19	2.07	24.23
Thrombocytes(estimated) (cel/ μ L)	199	3900.00	17200.00	9008	3418	8800
WBC (cel/ μ L)	343	5300.00	14182.50	8698	2283	8300
Heterophils (cel/ μ L)	343	1245.75	8005.15	3595	1647	3321
Eonophils**(cel/ μ L)	343	38.43	2519.65	799	837	594
Basophils (cel/ μ L)	343	136.00	2373.08	853	552	737
Lymphocytes (cel/ μ L)	343	681.68	6827.00	2997	1516	2698
Monocytes* (cel/ μ L)	343	0	718.80	230	296	156
Azurophils* (cel/ μ L)	343	0	816.95	223	218	166

Table 1(continued)

	N	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
Total plasma Protein (g/dL)	343	2.44	5.95	4.35	0.87	4.34
Urea* mg/dL	343	5.00	56.47	24.33	13.88	21.70
Uric Acid mg/dL	343	.40	4.08	1.66	1.13	1.30
ALT** UI/L	343	2.00	43.28	12.46	11.23	10.00
AST* UI/L	343	73.90	517.65	209.52	112.09	172.00
Glucose (mg/dL)	343	38.08	137.36	72.16	24.92	68.70
Total cholesterol (mg/dL)	343	79.00	448.83	221.37	102.66	210.00
Triglycerides (mg/dL)	343	27.18	1127.28	367.76	316.89	323.00
CK (UI/L)	342	123.10	2935.40	903.94	731.12	723.50
ALP UI/L	343	23.73	111.28	53.57	21.50	48.00
Calcium** (mg/dL)	343	8.77	23.99	13.15	4.71	12.23
Phosphorus** (mg/dL)	343	1.97	12.09	5.32	3.87	3.64

* Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in one sampling time

** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in two to three sampling times

*** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in more than three sampling times

Table 2: Effect of sampling time season (summer, autumn, winter and spring) on the eritrogram values and estimated thrombocytes on *Chelonoidis carbonaria* , mean, standard deviation(SD), maximum and minimum . 95% reference interval

	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
RBC ($\times 10^6$ cel/ μ L)					
Sumer (n=28)	0.38	0.66	0.54	0.078	0.567
Autumn (n=29)	0.38	0.64	0.509	0.083	0.513
Winter (n=29)	0.44	0.62	0.520	0.053	0.515
Spring (n=29)	0.44	0.64	0.519	0.054	0.520
HGB (g/dL)					
Sumer (n=28)Sp	3.87	7.68	6.00	0.99	6.09
Autumn (n=29)Sp	4.59	7.76	5.94	1.06	5.71
Winter (n=29)	4.89	7.66	6.13	0.79	6.10
Spring (n=29)SuA	5.28	8.33	6.44	0.85	6.30
HCT (%)					
Sumer (n=28)	18.82	32.00	25.679	3.89	25.83
Autumn (n=29)	18.67	31.20	24.83	4.16	24.33
Winter (n=29)	20.23	30.57	24.90	2.91	24.33
Spring (n=29)	21.80	32.87	26.02	2.89	24.67

Table 2 (continued)					
	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mediana
MCV (fL)					
Sumer (n=28)Sp	414.70	532.70	478.82	29.58	469.92
Autumn (n=29)	425.47	554.40	490.88	35.51	488.93
Winter (n=29)Sp	420.87	554.90	480.84	35.17	480.39
Spring (n=29)SuW	440.53	547.27	503.16	35.68	513.11
MCHC (g/dL)					
Sumer (n=28)AWSp	19.56	25.60	23.38	1.43	23.40
Autumn (n=29)SuWSp	21.17	26.48	23.97	1.55	23.97
Winter (n=29)SuA	22.23	26.44	24.67	1.26	24.64
Spring (n=29)SuA	22.67	27.13	24.72	1.34	24.54
Thrombocytes (estimated)					
(cel/ μ L)					
Sumer (n=26)	5300	16650	10672	2998	10850
Autumn (n=28)	6500	17200	10032	2194	9850
Winter (n=25)	3500	11200	6650	2202	6500
Spring (n=27)	4200	17200	8636	3425	7700

* Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in one sampling time

** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in two to three sampling times

*** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in more than three sampling times

Su $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Summer

A $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Autumn

W $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Winter

Sp $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Spring

Table 3: Effect of sampling time season (summer, autumn, winter and spring) on the Leucogram values on *Chelonoidis carbonaria*, mean, standard deviation(SD), maximum and minimum . 95% reference interval

	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
WBC (cel/ μ L)					
Sumer (n=28)Sp	7096	14424	9005	1778	8450
Autumn (n=29)Sp	6533	13233	8858	1864	8433
Winter (n=29)Sp	6350	13497	9063	2170	8500
Spring (n=29)SuAW	5790	12827	7849	1740	7500
Heterophils (cel/ μ L)					
Summer(n=28) AWSp	1857	7751	4317	1401	4162
Autumn (n=29)SuSp	2024	6126	3638	1168	3474
Winter (n=29)SuSp	1652	7082	3629	1386	3239
Spring (n=29)SuAW	1441	7603	2788	1193	2643
Eosinophils ^{**} (cel/ μ L)					
Sumer (n=28)	71	2301	839	969	641
Autumn (n=29)	263	2974	925	818	657
Winter (n=29)	142	2054	770	620	610
Spring (n=29)	50	1528	650	448	578

Table 3 (continued)					
	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mediana
Basophils (cel/ μ L)					
Sumer (n=28)Sp	132	2128	812	425	780
Autumn (n=29)Sp	215	1893	785	464	758
Winter (n=29)Sp	224	2200	836	500	707
Spring (n=29)SuAW	263	1963	995	518	857
Linfócytes (cel/ μ L)					
Sumer (n=28)W	1020	6494	2582	1087	2514
Autumn (n=29)W	1472	5133	2993	1242	2406
Winter (n=29)SuASp	1737	6261	3444	1406	2787
Spring (n=29)W	1389	5130	2958	1086	2601
Monocytes *(cel/ μ L)					
Sumer (n=28)WSp	113	979	324	253	227
Autumn (n=29)WSp	86	554	274	147	253
Inverno (n=29) SuA	55	392	164	102	148
Spring (n=29)SuA	52	331	159	85	145

Table 3(continued)

	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mediana
Azurophils* (cel/ μ L)					
Sumer (n=28)AWSp	36	260	131	61	120
Autumn (n=29)Su	81	552	244	149	194
Winter (n=29)SuSp	22	460	220	129	209
Spring (n=29)SuW	88	735	299	145	267

* Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in one sampling time

** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in two to three sampling times

*** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in more than three sampling times

Su $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Summer

A $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Autumn

W $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Winter

Sp $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Spring

Table 4: Effect of sampling time season (summer, autumn, winter and spring) on the plasma biochemistry values on *Chelonoidis carbonaria*, mean, standard deviation(SD), maximum and minimum . 95% reference interval .

	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
Total plasma protein (g/dL)					
Sumer (n=28)WSp	2.73	5.40	4.17	0.78	4.283
Autumn (n=29)WSp	2.38	5.36	4.08	0.85	4.170
Winter (n=29)SuA	3.23	5.72	4.52	0.74	4.420
Spring (n=29)SuA	3.17	5.96	4.63	0.81	4.560
Urea* (mg/dL)					
Sumer (n=28)W	7.76	37.44	19.59	8.56	18.33
Autumn (n=29)	9.31	53.71	25.44	12.80	23.73
Winter (n=29)Su	11.08	51.11	26.89	12.02	22.40
Spring (n=29)	14.57	45.49	25.75	10.01	24.00
Uric acid (mg/dL)					
Sumer (n=28)WSp	0.46	1.57	0.83	0.28	0.750
Autumn (n=29)WSp	0.44	1.31	0.80	0.26	0.733
Winter (n=29) SuA	1.40	3.60	2.28	0.74	2.000
Spring (n=29)SuA	2.23	3.32	2.73	0.37	2.667

Table 4(continued)

	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
ALT** UI/L					
Sumer (n=28)Sp	2.48	32.07	9.93	7.89	7.83
Autumn (n=29)WSp	2.00	28.20	7.38	8.10	3.67
Winter (n=29)ASp	6.37	22.90	13.21	4.40	12.67
Spring (n=29)SuAW	5.63	37.23	19.34	9.10	17.00
AST*(UI/L)					
Sumer (n=28)	92.18	487.50	220.69	120.63	167.667
Autumn (n=29)	81.10	540.17	222.59	127.30	192.667
Winter (n=29)	99.47	431.50	201.33	86.96	190.333
Spring (n=29)	106.27	394.37	192.04	79.94	153.667
Glucose(mg/dL)					
Sumer (n=28)ASp	53.44	107.68	78.73	17.56	78.65
Autumn (n=29)Su	43.89	94.89	66.76	13.28	65.53
Winter (n=29)	50.06	99.65	73.17	15.16	73.20
Spring (n=29)Su	43.30	104.10	69.99	19.68	68.27

Table 4 (continued)					
	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
Cholesterol (mg/dL)					
Sumer (n=28)AWSp	77.35	289.37	173.57	68.52	168.000
Autumn (n=29)Su	112.77	425.97	244.02	90.18	238.000
Winter (n=29)SuSp	114.23	458.97	249.57	102.71	231.000
Spring (n=29)SuW	95.03	420.07	217.59	112.98	178.500
Triglycerides (mg/dL)					
Sumer (n=28)Sp	22.17	858.49	335.30	289.81	313.67
Autumn (n=29)	50.13	742.27	362.14	228.39	345.67
Winter (n=29)	49.07	802.83	340.74	232.55	337.00
Spring (n=29)Su	47.27	1341.93	444.98	447.23	328.00
CK (UI/L)					
Sumer (n=28)Sp	221.10	2404.58	969.27	622.80	893.250
Autumn (n=29)Sp	174.77	2575.93	997.77	639.96	808.000
Winter (n=29)Sp	220.97	2584.10	1049.44	647.69	972.667
Spring (n=29)SuAW	121.33	1849.97	593.87	469.66	483.667

Table 4 (continued)					
	Minimum	Maximum	Mean	SD	Median
ALP (UI/L)					
Sumer (n=28)AWSp	40.00	110.42	69.82	22.14	63.67
Autumn (n=29)SuW	28.17	83.50	52.09	16.12	50.67
Winter (n=29)SuASp	21.83	67.07	43.66	12.38	42.00
Spring (n=29)SuW	28.90	76.63	28.67	77.33	43.67
Calcium** (mg/dL)					
Sumer (n=28)	9.41	21.10	13.13	3.45	12.07
Autumn (n=29)	9.44	15.16	12.60	1.55	12.63
Winter (n=29)	10.32	17.54	12.59	2.04	12.13
Spring (n=29)	9.53	34.02	14.59	6.61	12.66
Phosphorus**(mg/dL)					
Sumer (n=28)	2.67	14.50	5.17	3.09	4.083
Autumn (n=29)	2.94	15.23	4.46	2.79	3.43
Winter (n=29)	2.06	10.15	5.01	2.71	3.743
Spring (n=29)	2.34	10.24	4.64	2.35	3.770

* Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in one sampling time

** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in two to three sampling times

*** Variable with non-normal distribution ($p \leq 0.05$) in more than three sampling times

Su $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Summer

A $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Autumn

W $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Winter

Sp $p \leq 0,05$ when compared with the results of the Spring

Table 5: Effect of sex in every analyzed moment (January to December) in the biochemistry variables *Chelonoidis carbonaria*,. Mean of each sex in every analyzed moment.

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
RBC($\times 10^6$ cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	0,56	0,49*	0,48	0,48***	0,42***	0,43***	0,49*	0,51	0,50	0,51	0,52	0,50
Mean Males (n=15)	0,61	0,56*	0,54	0,58***	0,56***	0,58***	0,55*	0,55	0,52	0,53	0,51	0,54
HGB (g/dL)												
Mean Females (n=14)	5,90*	5,62	5,31*	5,38***	5,21***	5,18***	5,58	5,73	6,26	6,32	6,65	6,41
Mean Males (n=15)	6,57*	6,25	6,37*	6,72***	6,41***	6,63***	6,07	6,32	6,79	6,48	6,08	6,82
HCT (%)												
Mean Females (n=14)	24,07**	24,00*	22,71***	22,57***	21,71***	20,79***	23,00**	23,86*	23,50	25,54	26,21	25,57
Mean Males (n=15)	28,43**	27,43*	27,43***	27,80***	27,93***	27,53***	26,07**	27,13*	25,53	26,13	26,13	26,86
MCV(fL)												
Mean Females (n=14)	433,82*	487,22	479,96	476,91	515,30	488,26	475,73	468,11	475,02	497,75	505,34	515,05
Mean Males (n=15)	467,28*	492,79	511,83	485,48	502,02	477,85	479,00	492,87	492,75	497,84	509,59	503,55
MCHC (g/dL)												
Mean Females (n=14)	24,56*	23,52	23,33	23,85	24,09	25,00	24,34	23,98	26,68	24,75	25,42**	25,08
Mean Males (n=15)	23,10*	22,64	23,13	24,16	22,87	23,94	23,28	23,22	26,56	24,69	23,22**	25,32

Table 5 (continued)

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Thrombocytes (estimated) (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	11871	12171	10600	11900	9540	9175	6200	7071	5575	9025	7550	8900
Mean Males (n=15)	10456	8440	10270	9978	8988	9778	6075	8863	6509	7970	8145	7567

* $P\leq 0,05$ when compared with the other sex

** $P\leq 0,01$ when compared with the other sex

*** $P\leq 0,001$ when compared with the other sex

Table 6: Effect of sex in every analyzed moment (January to December) in the leucogram variables *Chelonoidis carbonaria*,. Mean of each sex in every analyzed moment.

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
WBC (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	9171	9093	10257	9636	9100	8421	9621	9057	8036	8446	8193	7993
Mean Males (n=15)	8521	8293	8693	8860	8300	8873	10000	8907	8727	7740	7660	7164
Heterophils (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	4266	3799	4561	3544	3982	3573	3845	3413	2962	2581	2808	2913
Mean Males (n=15)	4902	3919	4459	3469	3999	3272	4591	3028	3892	2791	3114	2572
Eosinophils (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	1377+**	1135+*	1285***	1221	956	591	590	614	517	665	670	894
Mean Males (n=15)	433+**	419+*	383***	836	998	946	792	1059	1010	647	581	510
Basophils(cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	771	811	983	887	773	828	808	921	938	997	1018	1117
Mean Males (n=15)	759	713	837	904	697	630	835	696	827	839	1003	924

Table 6 (continued)

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Lymphocytes (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	2090	2967	3019	3353	2703	2911	3880	3720	3237	3871	3176	2719
Mean Males (n=15)	1836	2923	2655	3242	2193	3559	3308	3846	2705	3051	2398	2614
Monocytes (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	609	287	182	559*	438**	91	195	144	188**	145	100	173
Mean Males (n=15)	490	223	154	271*	166**	137	187	188	84**	147	167	219
Azurophils (cel/ μ L)												
Mean Females (n=14)	59	94	229	73	249	429	303	247***	193	187	420	177**
Mean Males (n=15)	102	96	205	137	247	329	287	89***	209	265	398	326**

* $P \leq 0,05$ when compared with the other sex

** $P \leq 0,01$ when compared with the other sex

*** $P \leq 0,001$ when compared with the other sex

+Analyte with nonparametric distribution on that moment, compared by the Mann-Whitney method

Table 7: Effect of sex in every analyzed moment (January to December) in the biochemistry variables *Chelonoidis carbonaria*,. Mean of each sex in every analyzed moment.

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Total Plasma Protein (g/dL)												
Mean Females (n=14)	3,94*	3,64**	3,57***	3,54***	3,50***	3,56***	3,87***	4,14***	4,05***	4,50*	4,44	4,21
Mean Males (n=15)	4,79*	4,51**	4,56***	4,47***	4,59***	4,74***	4,90***	5,09***	4,94***	5,07*	4,73	4,73
Urea (mg/dL)												
Média Fêmeas (n=14)	15,21	21,27	17,19	15,54**	19,21+***	15,04***	17,48***	22,93*	21,51	21,63	23,93	28,80**
Média Machos (n=15)	17,07	24,34	22,48	24,19**	37,33+***	39,55***	37,18***	31,35*	29,64	31,09	25,54	19,79**
Uric acid (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	0,86	0,76	0,68	0,66**	0,71	0,72	4,19***	2,06*	2,11	2,11	3,26***	3,19**
Mean Males (n=15)	0,83	0,91	0,92	0,95**	0,88	0,85	1,02***	2,37*	2,05	2,03	2,79***	2,89**
ALT (UI/L)												
Mean Females (n=14)	8,21	6,50	7,29	5,71	8,43+	4,00+	12,21	8,86**	11,00***	17,69	16,57	11,64
Mean Males (n=15)	14,21	8,64	14,71	13,60	7,93+	4,33+	15,40	13,20**	18,07***	28,13	25,60	15,64
AST (UI/L)												
Mean Females (n=14)	178,07	182,93	168,71*	157,57**	161,71*	160,93*	164,21*	156,93*	168,43	188,23	184,29	158,14
Mean Males (n=15)	243,07	254,36	297,00*	336,40**	262,60*	243,80*	242,20*	238,13*	230,47	235,40	209,27	181,07

Table 7 (continued)

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Glucose (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	66,79***	70,15	71,83	69,77	72,21	60,79	73,05	74,87	59,52	56,45***	51,81***	51,15***
Mean Males (n=15)	102,67***	85,51	75,41	67,48	65,08	65,40	74,87	79,24	76,65	91,56***	80,73***	86,01***
Cholesterol (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	202,36***	201,21***	269,07***	290,57**	282,79*	295,50*	303,07**	307,43**	310,86***	327,77***	313,64***	275,43***
Mean Males (n=15)	109,14***	115,57***	144,07***	190,53**	204,40*	209,47*	198,00**	200,87**	188,73***	156,67***	131,27***	112,86***
Triglycerides (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	615,93***	566,43***	572,43***	525,79*	436,86*	415,36	455,36***	433,79**	588,79***	730,77***	780,00***	827,00+***
Mean Males (n=15)	59,21***	78,64***	119,14***	288,93*	246,53*	278,80	187,80***	233,73**	175,33***	152,20***	98,27***	76,43+***
CK (UI/L)												
Mean Females (n=14)	722,66	679,54	899,99*	820,50	910,50	934,86	1213,07	1153,07	863,50	573,08	463,00	629,93
Mean Males (n=15)	962,71	957,31	1593,42*	1048,47	1301,60	948,87	1250,53	816,93	989,29	751,07	641,13	515,21
ALP(UI/L)												
Mean Females (n=14)	78,79*	83,00**	79,57**	80,79	48,50*	46,79	46,43	48,93	47,36	54,38	55,36*	55,50*
Mean Males (n=15)	62,07*	59,86**	55,64**	63,40	37,47*	36,93	40,53	39,60	39,87	48,07	41,47*	41,14*
Calcium (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	18,41	11,65	11,74	13,76	12,71	11,85	14,34*	12,51	13,83*	15,31*	19,74*	16,62*
Mean Males (n=15)	12,74	12,12	12,14	12,07	12,67	12,58	12,56*	11,37	11,11*	11,21*	11,99*	11,45*

Table 7 (continued)

	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Phosphorus (mg/dL)												
Mean Females (n=14)	8,11	5,29***	7,21+***	X	6,35***	6,23***	7,97***	6,68***	7,26***	7,04***	6,13***	5,62***
Mean Males (n=15)	3,91	3,36***	3,14+***	X	2,93***	2,57***	2,91***	2,82***	2,89***	3,23***	2,91***	2,88***

* $P \leq 0,05$ when compared with the other sex

** $P \leq 0,01$ when compared with the other sex

*** $P \leq 0,001$ when compared with the other sex

+Analyte with nonparametric distribution on that moment, compared by the Mann-Whitney method

X Nonstandard results excluded from the overall analysis.

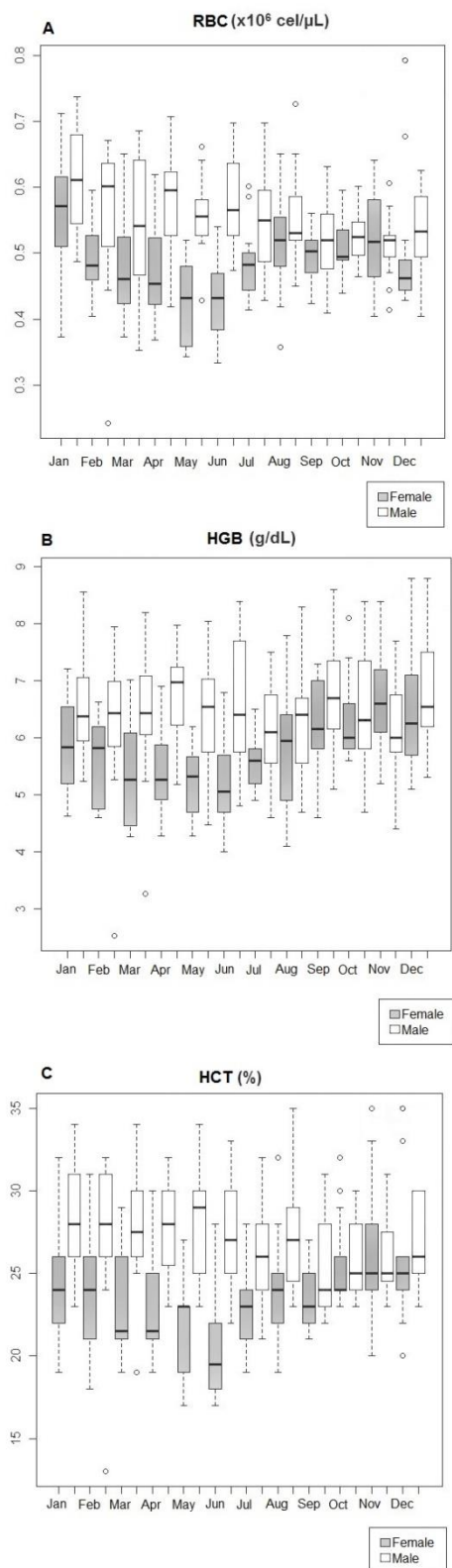


Figure 1: Eritrogram variation of the *C. catbonaria* during the analysis period with sex discrimination. A: RBC variation; B: HGB variation; C: HCT variation

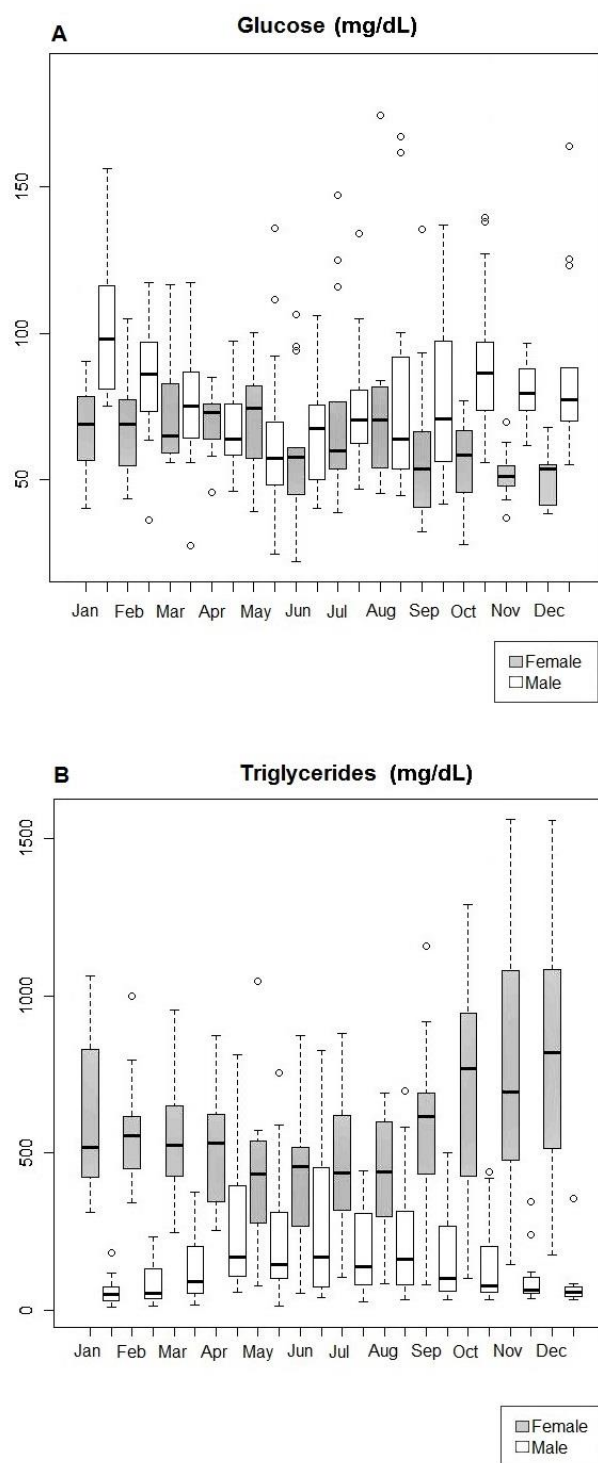


Figure 2: Glucose (A) and Triglyceride (B) variation of the *C. carbonaria*, during the analysis period, with sex discrimination

Figure 3: Peripheral blood smear of *C. carbonaria*, stained with Rapid Stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin). Most of the cells are mature erythrocytes with central round nucleus and homogenous cytoplasm, there are few leucocytes. H indicates a heterophil with a dense nucleus and granulated cytoplasm. E indicates a eosinophil with a dense nucleos, and a cytoplasm with darker and rounder granules.

Figure 4: Peripheral blood smear of *C. carbonaria*, stained with Rapid Stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin). Most of the cells are mature erythrocytes with central round nucleus and homogenous cytoplasm, there are few leucocytes . B indicates a Basophil with a large and thin nucleus, and small rounded granules in the cytoplasm.

Figure 5: Peripheral blood smear of *C. carbonaria*, stained with Rapid Stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin). Most of the cells are mature erythrocytes with central round nucleus and homogenous cytoplasm, there are few leucocytes and thrombocytes. L indicates a Lymphocyte with a large nucleus and pale cytoplasm. T indicates three thrombocytes grouped together with dense nucleus and homogenous cytoplasm

Figure 6: Peripheral blood smear of *C. carbonaria*, stained with Rapid Stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin). Most of the cells are mature erythrocytes with central round nucleus and homogenous cytoplasm, there are few leucocytes. M indicates a monocyte with an oval nucleos and a basophilic cytoplasm.

Figure 7: Peripheral blood smear of *C. carbonaria*, stained with Rapid Stain (Quick Panoptic® IB: Laborclin). Most of the cells are mature erythrocytes with central round nucleus and homogenous cytoplasm, there are few leucocytes. A indicates a Azurophil with a large pleomorphic nucleus and cytoplasm with azurophilic granules

APENDICE

TABELA 10: Comparação dos resultados Eritrocitários do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio.

Autores Espécie	Médias (intervalo)				
	Eritrócitos (x10 ⁶ cel/ μ L)	Hb (g/dl)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM(g/dL)
BERGAMINI et. al. 2016 <i>C. carbonaria</i>	0,522 (0,242- 0,793)	6,13 (2,52- 8,90)	25,36 (13- 35)	488,86 (339,46- 660,92)	24,19 (17,16- 29,47)
CHRISTOPHER et al 1999 (Mediana) <i>Gopherus agassizii</i>	0,611	6,53	24,35	396,75	27
ZAIAS et al 2006 <i>Geochelone radiata</i>	0,675	-	33,5	-	-
CHAFFIN et al 2008 <i>Macrochelys temminckii</i>	-	-	23,2	-	-
CABRERA et al 2011 <i>Chelonoidis denticulata</i>	0,44	7,0	20,3	502,7	34,1
KELLER et al 2012 <i>Emys marmorata</i>	-	-	26,31	-	-
ANDREANI et al 2014 <i>Testudo hermanni</i>	-	8,8	23	-	-
BIELLI et al 2015 (Mediana) <i>Testudo Hermannii boettgeri</i>	0,8	6,8	24	310	32,5
KELLY et al 2015 (Mediana) <i>Caretta caretta</i>	-	-	31	-	-

TABELA 11: Comparação dos resultados Leucocitários do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio.

Autores/Espécie	Médias (Intervalo) (cel/μL) Leuco. Totais	Medias (intervalos) Diferencial de Leucócitos					
		Hete.	Eosino.	Baso.	Linfo.	Mono.	Azuro.
Relativos (%)							
BERGAMINI et. al. 2016 <i>C. carbonaria</i>	8697,67 (4800-19700)	41,32 (12-85)	8,96 (0-59)	10,01 (0-34)	34,39 (1-69)	2,66 (0-33)	2,66 (0-12)
CABRERA et al 2011 <i>Chelonoidis denticulata</i>	7820	55,6	15,8	1,5	25,5	0,4	1,2
Absolutos (cel/μL)							
BERGAMINI et. al. 2016 <i>C. carbonaria</i>	8697,67 (4800-19700)	3595,13 (928-10835)	798,85 (0-8201)	853,16 (0-3580)	2997,32 (63-8385)	229,73 (0-2639)	223,48 (0-1379)
CHRISTOPHER et al 1999(Mediana) <i>Gopherus agassizii</i>	4683,75	2637	49,25	872,5	516,75	11,5	37,25
ZAIAS et al 2006 <i>Geochelone radiata</i>	8325	3975	135	1000	2975	225	-
CHAFFIN et al 2008 <i>Macrochelys temminckii</i>	12300	4716	2556	1273	3101	-	660
KELLER et al 2012 <i>Emys marmorata</i>	14665	5070	3405	1950	3225	815	290
BIELLI et al 2015 (Mediana) <i>Testudo Hermannii boettgeri</i>	9400	2310	970	85	4440	480	-
KELLY et al 2015 (Valor estimado/Mediana) <i>Caretta caretta</i>	9000	4700	300	0	3400	140	0

TABELA 12: Comparação dos resultados Bioquímicos do Jabuti Piranga (*C. carbonaria*), com os resultados publicados em artigos por autores que abordaram outra espécie de quelônio.

Autores/Espécie	Médias(intervalo)												
	PPT (g/dL)	PPTR	Ureia (mg/dL)	Ac. Úrico (mg/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Glico. (mg/dL)	Coles. (mg/dL)	Trigli. (mg/dL)	CK (U/L)	FA (U/L)	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mg/dL)
BERGAMINI et. al. 2016 <i>C. Carbonaria</i>	4,98 (2,2-8,8)	PSTE 4,34 (2,05-6,67)	24,33 (1-103)	1,66 (0,1-8,4)	12,46 (2-74)	209,52 (30-718)	72,16 (22-174)	221,32 (49-319)	367,76 (8-1563)	903,94 (66,4691)	53,57 (14-125)	13,15 (5,67-57,3)	5,32 (1,3-35,2)
DICKINSON et al 2002 <i>Gopherus agassizii</i>	-	3,65	2,79	5,1	2,8	68,35	129,85	126,45	128,05	-	89,9	11,75	3,00
ZAIAS et al 2006 <i>Geochelone radiata</i>	5,05	-	10,48	0,33	11,25	114	56	105,75	132,5	608,75	-	11,9	3,58
CHAFFIN et al 2008 <i>Macrochelys temminckii</i>	-	4,2	53,14	0,74	23,0	167,7	48	57,2	48,7	398,5	-	9,3	3,7
KELLER et al 2012 <i>Emys marmorata</i>	-	4,58	67,77	0,58	-	219,95	62,18	204,9	-	-	219,35	13	3,44
ANDREANI et al 2014 <i>Testudo hermanni</i>	-	4,0	5,59	2,72	4,0	134	73	-	-	284	368	14,7	3,4
EHSANPOUR et al., 2014 <i>Eretmochelys imbricata</i>	-	3,38	27,4	-	2,79	145,65	80,62	134,96	237,21	293,86	56,83	-	-
KELLY et al 2015(Mediana) <i>Caretta caretta</i>	-	3,5	-	0,8	-	161	104,51	-	-	1034	-	7,6	6,81

A T E S T A D O

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa **"Variação semestral dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de Jabuti Piranga (*Chelonoidis carbonária*)"** Protocolo nº 100/2015 - CEUA, do Professor Raimundo Souza Lopes, a ser conduzido por **Bruno Carvalho da Silva Bergamini**, desta Faculdade, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 07 de agosto de 2015.


Profª. Ass. Drª. Maria Lúcia Gomes Lourenço

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu