

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO JEJUM E DA REALIMENTAÇÃO SOBRE AS  
FUNÇÕES METABÓLICAS DA TARTARUGA *Kinosternon  
scorpioides* (LINNAEUS, 1766) CRIADA EM CATIVEIRO**

**Antonia Santos Oliveira**

Médica Veterinária

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL**

**2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO JEJUM E DA REALIMENTAÇÃO SOBRE AS  
FUNÇÕES METABÓLICAS DA TARTARUGA *Kinosternon  
scorpioides* (LINNAEUS, 1776) CRIADA EM CATIVEIRO**

**Antonia Santos Oliveira**

**Orientador: Prof. Dr. Celio Raimundo Machado**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL**

**2010**

Oliveira, Antonia Santos  
O48e Efeito do jejum e da realimentação sobre as funções metabólicas da tartaruga *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1776) criada em cativeiro / Antonia Santos Oliveira. – – Jaboticabal, 2010  
x, 47 f.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010

Orientador Celio Raimundo Machado

Banca examinadora: Alana Lisléa de Sousa, Adriana Helena de Souza, Luciane Helena Gargaglioni Batalhão, Kênia Cardoso.

Bibliografia

1. Répteis. 2. Glicose. 3. Proteína. 4. Lipídeos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619.612.39:639.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Antonia Santos Oliveira, filha de Ailton Sousa Oliveira e Maria de Nasaré Santos Oliveira, nasceu em 28 de janeiro de 1957, em Caxias, Estado do Maranhão.

Iniciou o curso de Médica Veterinária na Universidade Estadual do Maranhão em julho de 1978, concluindo-o em julho de 1982.

Em 1987 ingressou como professora do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão.

Em 1992 e 1993 realizou o curso de Especialização em Práticas em Ciências Fisiológicas pela Fundação Universidade Rio Grande (FURG) - RS.

Em março de 1998, iniciou o Programa de Pós-Graduação em nível de Mestrado em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa, concentrando os estudos na área de Fisiologia Animal, concluindo-o em agosto de 2000.

Em maio de 2006, iniciou o Doutorado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Jaboticabal, através do Doutorado Interinstitucional (DINTER), entre a UNESP-Jaboticabal e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, concluindo-o em fevereiro de 2010.

## **DEDICO**

Ao meu filho Paulo Henrique, luz da minha vida, pela sua existência e por me acompanhar nesta jornada.

Aos meus pais Maria de Nasaré e Airton (*in memoriam*), pelos ensinamentos e valores ao longo desses anos e por me mostrarem a importância da vida.

Ao meu esposo Francisco das Chagas, pelo seu amor, compreensão pela nossa ausência, apoio, carinho e convivência ao longo desses anos.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, fonte de toda existência.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização deste curso.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela oportunidade oferecida para ampliação de meus conhecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida e financiamento parcial da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Celio Raimundo Machado, não só pela condução deste trabalho, mas também pelo exemplo de profissionalismo, dedicação e amizade, que marcaram o nosso convívio durante este treinamento.

Ao Prof. Dr. César Roberto Esper, exemplo de eficiência, em acreditar na implantação do DINTER entre a UNESP e a UEMA.

À Profa. Dra. Francisca Neide Costa pelo empenho para implantação do DINTER entre a UNESP e a UEMA e pela sua sabedoria e intuição sempre contornando as situações difíceis.

À Profa. Dra. Rosangela Zacarias Machado pela firmeza e dedicação na continuidade da Coordenação do DINTER e por estar sempre pronta para ouvir e ajudar possibilitando até as coisas aparentemente impossíveis.

À Profa. Dra. Karen Werther pela cessão das instalações do Núcleo de Estudos dos Animais Silvestres, UNESP, Jaboticabal, para a realização do experimento e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Euclides Malheiros, pela amizade e pelos esclarecimentos imprescindíveis nas análises estatísticas.

Às Professoras Doutoras Alana Lislea de Sousa, Adriana Helena de Souza, Luciane Helena Gargaglioni Batalhão e Kênia Cardoso Bícego pela amizade e sugestões apresentadas pela melhoria do presente trabalho.

Aos Professores do DINTER que, em meio às suas inúmeras atividades, se deslocaram até São Luis e nos transmitiram os seus conhecimentos.

À Profa. Dra. Elizabeth C. Urbinati pela cessão do Laboratório de Fisiologia Animal para as análises de glicogênio e lipídeos totais.

Aos colegas de Curso, pelo companheirismo nesta jornada de sonhos, em que muitas foram às dificuldades, mas ainda maior a nossa determinação em vencer.

À Cintia Graziela Candioto e Débora Martins Santos Silva, pela amizade e importante ajuda na condução dos trabalhos de campo.

Aos funcionários do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Renata Lemos Nagib Jorge, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira e Paulo César da Silva, pelo auxílio no processamento das análises bioquímicas e principalmente pela amizade.

À funcionária Damares Perecin Roviero, Depto de Morfologia e Fisiologia Animal pela amizade, carinho e apoio durante a realização das análises bioquímicas.

Aos colegas do Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento Patologia Veterinária, UNESP, Jaboticabal pela atenção durante as análises bioquímicas.

À Maria Antonieta R.Garófalo e à Danúbia Frasson, técnica e doutoranda do Laboratório de Metabolismo, Depto. de Bioquímica e Imunologia, Fac. de Medicina de Ribeirão Preto-USP, pelas orientações na análise de ácidos graxos livres.

À amiga Alana Lislea de Sousa, pela amizade e constantes palavras de carinho e incentivo nessa jornada.

Aos amigos e compadres Érico Cordeiro e Cláudia Torreão que tantas vezes demonstraram que a amizade não é só feita de palavras, mas também de ações.

À amiga Maria Eliane Magalhães, pelos anos de amizade e por sua presença em todos os momentos.

Às colegas Juliana e Ana do Núcleo de Estudos dos Animais Silvestres, UNESP, Jaboticabal, SP pelo alegre convívio.

À todos os funcionários do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAV-UNESP pela amizade e agradável convivência.

Aos meus irmãos: Angelita, Francisco, Ray e Sebastião pelo incentivo e força, durante a realização deste trabalho.

E a todos os que contribuíram com este trabalho.

## SUMÁRIO

|                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| I. LISTA DE ABREVIATURAS.....                                                                     | ix  |
| II. LISTA DE TABELAS.....                                                                         | x   |
| III. LISTA DE FIGURAS.....                                                                        | xi  |
| IV. LISTA DE QUADROS.....                                                                         | xii |
| RESUMO.....                                                                                       | xiv |
| ABSTRACT.....                                                                                     | xv  |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                | 1   |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA.....                                                                     | 3   |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                       | 15  |
| 3.1. Local do experimento.....                                                                    | 15  |
| 3.2. Animais.....                                                                                 | 15  |
| 3.3. Grupos experimentais e tratamentos.....                                                      | 16  |
| 3.4. Experimento 1 .....                                                                          | 17  |
| 3.4.1. Coleta de sangue.....                                                                      | 17  |
| 3.4.2. Análises bioquímicas.....                                                                  | 18  |
| 3.4.3. Análise estatística.....                                                                   | 19  |
| 3.5. Experimento 2 .....                                                                          | 20  |
| 3.5.1. Necrópsia dos animais e retirada do fígado e do músculo.....                               | 20  |
| 3.5.2. Análises Bioquímicas.....                                                                  | 20  |
| 4. RESULTADOS.....                                                                                | 22  |
| 4.1. Experimento 1 .....                                                                          | 22  |
| 4.1.1. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração plasmática de glicose ..... | 22  |
| 4.1.2. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de proteína.....     | 23  |
| 4.1.3. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração plasmática de uréia.....    | 24  |
| 4.1.4. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de ácido úrico.....  | 25  |
| 4.1.5. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre concentração sérica                        |     |

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| de triacilgliceróis .....                                                                                         | 26 |
| 4.1.6. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de ácidos graxos livres.....         | 27 |
| 4.2. Experimento 2.....                                                                                           | 28 |
| 4.2.1. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração de glicogênio hepático e muscular.....      | 28 |
| 4.2.2. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração de lipídeos totais hepático e muscular..... | 30 |
| 5. DISCUSSÃO.....                                                                                                 | 32 |
| 6. CONCLUSÕES.....                                                                                                | 37 |
| 7. REFERÊNCIAS.....                                                                                               | 38 |

## I. LISTA DE ABREVIATURAS

A.O.A.C - Association of Official Agricultural Chemists

Ad – Adulto

AGL – Ácidos graxos livres

Alim – Alimentados

An – Animal

Jej. – Jejuados

Jov – Jovens

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – Carbonato de potássio

Real. - Realimentados

SNC – Sistema Nervoso Central

VF – Volume final

VLDL – Lipoproteína de densidade muito baixa

## II. LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                      |              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado                                        | Página<br>23 |
| Tabela 2. Concentração sérica de ácido úrico (mg/dL) dos grupos de animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado | 26           |

### III. LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1. Exemplar adulto de <i>Kinosternon scorpioides</i> (jurar).....                                                                                                                                                                                                                                                         | 03     |
| Figura 2. Mapa digital da Baixada Maranhense – MA (botões indicam onde se encontram os animais da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> ).....                                                                                                                                                                                   | 05     |
| Figura 3. Coleta de sangue no seio venoso cervical dorsal do <i>Kinosternon scorpioides</i> .....                                                                                                                                                                                                                                 | 17     |
| Figura 4. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ ).....       | 22     |
| Figura 5. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de proteínas (g/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ ). ....         | 24     |
| Figura 6. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração plasmática de uréia (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ ).....         | 25     |
| Figura 7. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de ácido úrico (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ ).....       | 26     |
| Figura 8. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica dos triacilgliceróis (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ )..... | 27     |
| Figura 9. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de AGL ( $\mu$ mol/dL) dos animais jovens e adultos da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey; $p \leq 0,05$ ). ....      | 28     |

- Figura 10. Representação gráfica dos valores do glicogênio hepático e muscular (g/100g dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado..... 30
- Figura 11. Representação gráfica dos valores da concentração dos lipídeos hepático e muscular (g/100g dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado..... 31

#### IV. LISTA DE QUADROS

|                                                                                                                                                                                                     | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Quadro 1. Dados meteorológicos mensais do ano de 2009 em Jaboticabal – SP.....                                                                                                                      | 15     |
| Quadro 2. Composição centesimal da ração comercial peletizada expressa em porcentagem da matéria seca fornecida aos espécimes de <i>Kinosternon scorpioides</i> durante o período experimental..... | 15     |
| Quadro 3. Valores do glicogênio hepático e muscular (g/100g) da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> dos animais nos estados alimentado, jejuado e realimentado.....                              | 29     |
| Quadro 4. Valores dos lipídeos totais hepático e muscular (g/100g) da espécie <i>Kinosternon scorpioides</i> dos animais nos estados alimentado, jejuado e realimentado.....                        | 31     |

## **Efeito do jejum e da realimentação sobre as funções metabólicas da tartaruga *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1776) criada em cativeiro**

### **RESUMO**

O estudo objetivou avaliar as respostas metabólicas da espécie *Kinosternon scorpioides* (adultos e jovens) criada em cativeiro, nas fases, adultos e jovens nos estados: alimentado, jejuado e realimentado. O estudo foi dividido em dois experimentos distintos. O experimento 1, dividido em dois grupos de 12 animais adultos e 12 animais jovens com coletas de sangue no 1º dia do experimento com todos os animais alimentados, aos 15, 30 e 60 dias com os animais jejuados. Após este período os animais foram realimentados por 15 dias e realizada nova coleta de sangue. Foram determinadas as concentrações de glicemia, ureia, proteína, ácido úrico, triacilgliceróis e ácidos graxos. Estatisticamente foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2x5 e as médias comparadas pelo teste de Tukey com  $\alpha=5\%$ . Para o experimento 2, cinco animais adultos foram submetidos a eutanásia, sendo no 1º dia do experimento com um animal alimentado, em seguida aos 15, 30 e 60 dias eles em jejum e aos 15 dias, e aos 75 dias, realimentados. Fragmentos de tecidos foram coletados para análise de glicogênio e lipídeos totais hepático e muscular. O jejum alimentar provocou diminuição das concentrações de glicose e ureia plasmática, triacilgliceróis e ácido úrico sérico, e glicogênio e lipídeos totais hepático e muscular. As concentrações de proteína e ácidos graxos sérico não sofreram alterações ao longo do período de restrição alimentar. Portanto a primeira reserva a ser mobilizada foi o glicogênio hepático, seguida dos lipídeos.

**Palavras-chave:** glicose, jejum, lipídeos, proteínas, répteis

**The effects of fasting and refeeding on the the metabolic functions of the *Kinosternon scorpioides* (LINNAEUS, 1776)**

**ABSTRACT**

The effects of fasting and early refeeding on metabolism were investigated in adult and young freshwater turtles, *K. scorpioides*. The study comprised two experiments: a) blood metabolite changes caused by food deprivation and b) tissue (liver and muscle) glycogen and total lipid differences after fasting and refeeding. Twenty-four animals were assigned for the first experiment, one group of 12 adult and one group of 12 young animals. In the experiment young animals blood glucose concentration were more susceptible to food deprivation than adult ones. In both groups significant decrease in the metabolite occurred only after 30 d of fasting. Resuming feeding for 30 days was not enough to recover blood levels. Total plasma proteins were not affected by the deprivation. Fasting decreased **BUN** occurring the highest difference around 30 days. Uric acid was increased mostly in the young animals after 60 d of fasting. Triacylglycerols levels showed early significant changes (decrease) in just 15 days of fasting and refeeding the fasted animals for 30 days were enough to recover the pre-fasting blood levels. Free fatty acids plasma levels showed a tendency to increase around 15 days of fasting. In the second experiment glycogen and total lipids were measured in liver and muscle of fasted and refed animals. Liver glycogen values decreased 56% at day 15 of fasting being stable thereafter. Muscle glycogen decreased slower compared with liver values, decreasing 6% by the end of 15 days of fasting. Total liver lipids values maintained stable even after 30 d of fasting and then showing a steep decrease (70%) by 60 d of fasting. Muscle lipids remained stable throughout the fasting period.

Keywords: fasting, glucose, lipids, proteins, turtle,

## 1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse sobre os testudíneos possibilitou um grande número de estudos sobre taxonomia, fisiologia, comportamento, história natural, patologia, anestesiologia e semiologia desses animais.

Esses espécimes têm evoluído nos mais diferentes ambientes, desde desertos, florestas tropicais, oceanos, até zonas temperadas próximas ao círculo ártico. Assim, a adaptação aos variados ambientes também permitiu uma grande diversidade fisiológica e morfológica deste grupo (FITCH, 1970).

A tartaruga *Kinosternon scorpioides* é um pequeno Sauropsida pertencente à ordem Testudinata, sub-ordem Cryptodira, família Kinosternidae, distribuídas desde a Costa Rica até o norte da Argentina e do Brasil. No Maranhão, é encontrada principalmente na Baixada Maranhense, onde é chamada de jurará. Esses animais fazem parte da história, costumes e economia da população ribeirinha local, sendo capturados e comercializados clandestinamente em hotéis, restaurantes, feiras e praias para o consumo como iguaria da culinária maranhense e paraense, sob a forma de casquinha de jurará ou muçã, colocando em risco a sobrevivência da espécie.

Muitas espécies de testudíneos são animais de vida longa e baixo índice reprodutivo e assim apresentam baixas taxas de crescimento e requerem longos períodos para atingir a maturidade. Essas características predispõem a espécie ao risco de extinção quando condições variáveis aumentam a mortalidade de adultos ou reduzem drasticamente a entrada de jovens na população (POUGH et al., 2008).

Esses animais mostram uma combinação de aspectos basais e características altamente especializadas que não são compartilhadas com qualquer outro grupo de vertebrados (POUGH et al., 2008), constituindo um modelo biológico ideal para o estudo das funções metabólicas, pois representam, entre os Sauropsida, a forma evolutivamente mais conservada (DA SILVA, 1986).

Estudos sobre metabolismo intermediário foram realizados em muitas espécies de Sauropsida por vários autores (MACHADO, 1977; BONNET, 1979; DA SILVA & MIGLIORINI, 1990; PARTATA & MARQUES, 1994; MOON et al., 1999 e McCUE, 2008).

No Brasil, segundo a literatura indexada disponível, não existem dados sobre metabolismo intermediário em *Kinosternon scorpioides*. Portanto, o conhecimento das respostas metabólicas dessa espécie se faz importante tanto para o conhecimento da sua biologia básica, quanto para o aperfeiçoamento de programas de nutrição e o aprimorar de técnicas de preservação dessa espécie na natureza. A somatória de tais conhecimentos poderá possibilitar a criação da espécie em cativeiro e com isso consolidar uma alternativa econômica para os habitantes de regiões ribeirinhas onde se encontra a espécie de forma nativa.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as respostas metabólicas de espécimes de *Kinosternon scorpioides*, jovens e adultos criados em cativeiro, nos estados alimentado, jejuado e realimentado, por meio das análises bioquímicas de ácidos graxos livres, triacilglicerois, ácido úrico, proteína do soro, glicose e uréia do plasma sangüíneo, glicogênio e lipídeos totais do fígado e do músculo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Características da espécie e distribuição geográfica

*Kinosternon scorpioides* (Fig. 1) é uma espécie de tartaruga semi-aquática, de médio a grande porte, típica de água doce. Quando adulta o comprimento da carapaça varia de 9,2 cm a 27 cm na Venezuela, nos Estados Unidos e no México (PRITCHARD & TREBBAU, 1984; ERNEST & BARBOUR, 1989; BERRY & IVERSON, 2001). No Brasil dados biométricos de animais adultos dessa espécie realizados por CASTRO (2006) mostram que o comprimento da carapaça varia de 13 a 19 cm e o peso de 250 g a 660 g para fêmeas e 200 g a 560 g para machos.



Figura 1 – Exemplar adulto de *Kinosternon scorpioides* (juraré).

A carapaça possui três quilhas longitudinais de cor marron clara, verde oliva ou preta e a união dos escudos de cor mais escura, independente do sexo. O plastrão apresenta escudos amarelados com o centro amarelo dourado e a cabeça pode ser marrom, cinza ou preta com manchas creme, laranja, vermelha, rosa ou amarela

(PRITCHARD & TREBBAU, 1984; BERRY & IVERSON, 2001; CASTRO, 2006). A cabeça é triangular e a narina em forma de focinho e a mandíbula tem a forma de bico de papagaio e duas barbelas na parte posterior. A cauda em ambos os sexos possui uma unha na extremidade, sendo a do macho três vezes maior do que a da fêmea (CASTRO, 2006).

Os jurarás são capazes de recolher completamente a cabeça, os membros e a cauda para o interior da carapaça, servindo de estratégia de proteção e segurança (STORER et al., 1991; CENAQUA, 1994 *apud* ANDRADE, 2004).

Durante o período reprodutivo, é possível encontrá-la em ambiente terrestre (SORIANO et al. 1997). A reprodução é sazonal, com, a nidificação ocorrendo de abril a agosto (COSTA et al. 2009) e o acasalamento mais significativo entre os meses de janeiro e março (COSTA et al. 2006).

A espécie é carnívora e onívora oportunista e se alimenta de pequenos animais como: peixes, girinos, insetos, algas, minhocas, besouros, pequenas quantidades de vegetais e matéria orgânica em decomposição, provavelmente com uma variedade alimentar ainda maior quando em ambiente natural (PRITCHARD & TREBBAU, 1984)

A distribuição geográfica dessa espécie é bastante ampla, sendo encontrada no Brasil, Peru, Equador, norte da Colômbia, Venezuela, Bolívia, Argentina e todos os países da América Central (ACUÑA-MESÉN 1994). No Brasil é encontrada no Norte e Nordeste e no Maranhão na Baixada Maranhense.

A Baixada Maranhense (Fig. 2) apresenta temperatura média anual superior a 27° C, umidade relativa do ar superior a 82% e precipitação pluviométrica anual com totais entre 1600 e 2000mm (Núcleo de Geoambiental – MA, 2009).

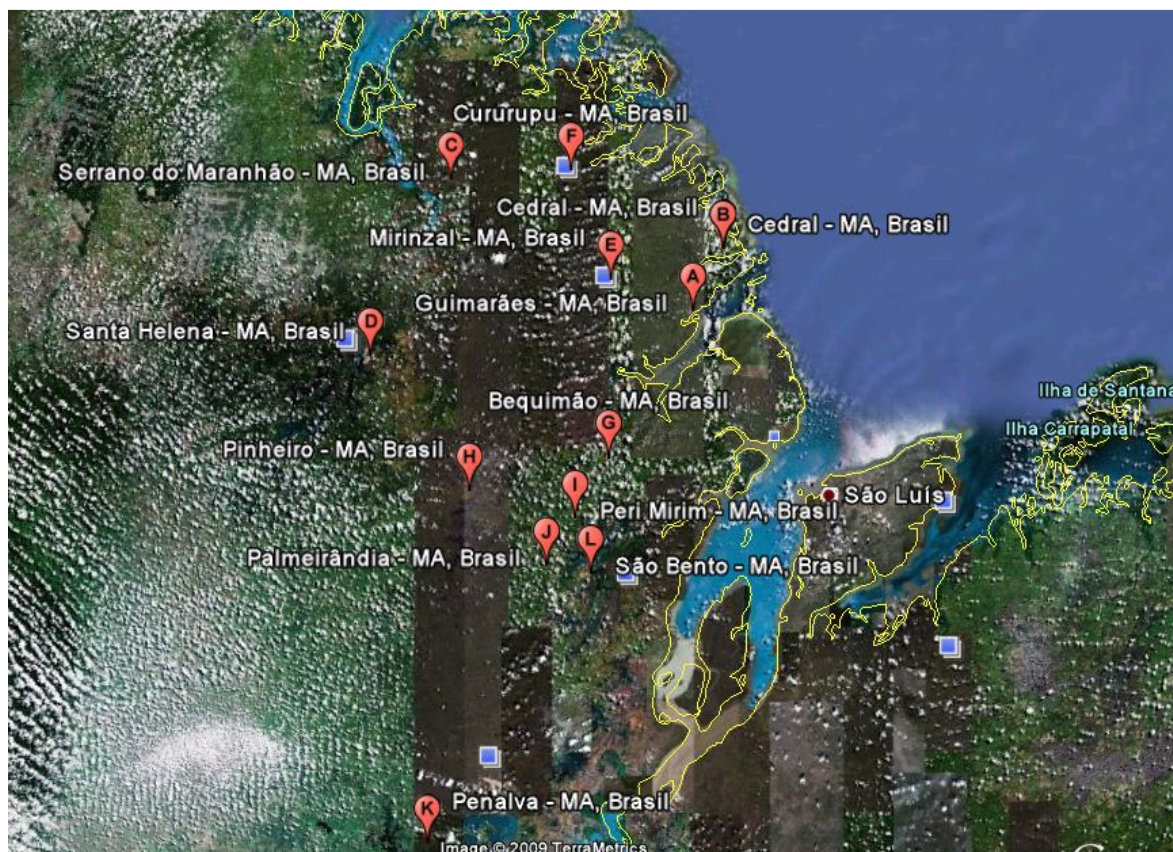


Figura 2 – Mapa digital da Baixada Maranhense – MA (botões indicam onde se encontram os animais da espécie *Kinosternon scorpioides*).  
Fonte: Google Earth, 2010.

No município maranhense de São Bento, base da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), foi observado que durante o período de estiagem, nos meses de julho a janeiro, exemplares da espécie *Kinosternon scorpioides* refugiam-se em locais úmidos como por exemplo, sob folhas secas, capins e moitas ou sob o solo, permanecendo nestes locais até o início do período chuvoso, que vai de fevereiro a junho (PEREIRA et al. 2007). Esses animais passam por um período de estivação no qual permanecem enterrados total ou parcialmente durante o período de estiagem (COSTA et al., 2006; PEREIRA, 2004).

## 2.2. Metabolismo intermediário

Em geral, os animais desenvolveram maneiras de armazenar os alimentos sob a forma de reservas energéticas, tanto para não passarem todo seu tempo em busca deles quanto para poderem explorar ambientes onde estes fossem escassos.

Existem diferentes tipos de reservas energéticas, sendo os mecanismos de controle de estoque e uso dos mesmos muito complexos, pois devem atender à demanda de diversos tecidos em situações variadas, como jejum e exercício. Dentre as diferentes reservas energéticas temos o glicogênio e os lipídeos (MAIA, 2007).

A glicose é uma reserva energética utilizada por todas as células. Seu armazenamento, sob a forma de glicogênio, é limitado, devido à grande quantidade de água que deve armazenar o que deixaria o corpo muito pesado. Tal molécula, é um importante combustível metabólico para os vertebrados e vários mecanismos atuam para assegurar um constante suprimento para os tecidos glicose-dependentes, tais como células vermelhas do sangue, hepatócitos, testículos, porção medular do rim, sistema nervoso, entre outros. A glicose pode originar-se no intestino a partir dos carboidratos ingeridos, além de ser produzida pelo fígado e rins por glicogenólise, ou mediante neogliconeogênese a partir do lactato, aminoácidos e glicerol. Entretanto, nos animais a neogliconeogênese é ativada apenas durante o jejum, especialmente quando há diminuição nos estoques de glicogênio no fígado (SUAREZ & MOMMSEN, 1987).

O glicogênio, um polímero de glicose, pode ser armazenado tanto no fígado quanto no músculo. O glicogênio hepático e muscular pode ser mobilizado para suprir o déficit energético no organismo animal, embora o muscular tenha menor importância para os outros tecidos.

O glicogênio é um polímero de tamanho variável que contém resíduos de glicose muito utilizados em adaptações bioquímicas em várias situações de estresse ambiental. Variações ambientais, do pH, dos níveis de oxigênio dissolvido na água, da salinidade, e períodos de grande esforço físico, bem como mudanças de dietas ou intervalo entre estas, podem resultar tanto em aumento como em diminuição do estoque de glicogênio (SOENGAS et al., 1995; MORAES et al., 1996).

Em vertebrados, diferentemente da glicólise, que ocorre em todos os tecidos, em vertebrados a gliconeogênese é restrita a certos tecidos, incluindo o fígado e os rins (CAHILL, 1986 *apud* MOON, 1988). O músculo esquelético pode produzir glicogênio, a partir do lactato, durante o exercício, mas não há evidências de que este processo contribui para o “pool” de glicose (CONNETT, 1979 *apud* MOON, 1988).

A mobilização do glicogênio hepático por mais intensa que seja sempre resta uma quantidade residual desse metabólito aos quais novas moléculas de glicose são acrescidas, permitindo uma nova síntese (MARZZOCO & TORRES, 2007).

O glicogênio hepático é fundamental como fonte de energia e fornecedor de glicose para a manutenção da homeostase glicêmica (LEHNNINGER et al., 1995).

No estado alimentado há predomínio de processos anabólicos sobre os catabólicos. Nesse estado há predomínio das ações da insulina sobre o dos glucagon. A insulina tem efeitos anabólicos promovendo a síntese de glicogênio no fígado e no músculo e de ácidos graxos no fígado e no tecido adiposo, a captação de aminoácidos e a síntese protéica no músculo (CAHILL Jr, 1970)

No fígado os carboidratos podem se transformar em glicogênio ou serem degradados até dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e água ( $\text{H}_2\text{O}$ ), sendo a energia da reação usada para formar a molécula adenosina trifosfato (ATP) no ciclo de Krebs e cadeia respiratória (RUTZ, 2002). A insulina promove a utilização da glicose e o seu armazenamento como glicogênio, bem como a inibição da glicogenólise e da gliconeogênese, reduzindo a produção hepática de glicose. Quando os estoques de glicogênio estão repletos, quantidades crescentes de glicose são convertidas a ácidos graxos liberados para a circulação sob a forma de triacilglicerois como lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (BEARDSAL et al., 2006; LEMOS, 2006).

As funções do fígado dos répteis são semelhantes às das aves, entre elas, o metabolismo de gorduras, proteínas e glicogênio, e produção de ácido úrico e fatores de coagulação (DIVERS & COOPER, 2000).

A manutenção das concentrações estáveis de glicose no sangue envolve mecanismos finamente regulados, no qual o fígado, tecidos extra-hepáticos e vários

hormônios, como a insulina, glucagon, adrenalina, glicocorticóides e os hormônios da tireóide desempenham um papel regulador fundamental (BEITZ, 2006).

O jejum se caracteriza por um quadro de ajustes metabólicos sucessivos, determinados particularmente pelo tipo de reserva energética disponível para uso em período de privação alimentar. Portanto, o jejum desencadeia um estado de elevada mobilização de todas as reservas energéticas, iniciando pela degradação do glicogênio hepático e aumentando, com isso, a disponibilidade de glicose (FARRAR & FRYE, 1977), ocorrendo uma redução da secreção de insulina e aumento da de glucagon. Desse modo, no momento em que o conteúdo de glicogênio hepático atinge valores mínimos, inicia-se uma intensa mobilização dos triglicerídeos, que são convertidos em ácidos graxos e glicerol, utilizados pela maioria das células para a produção de energia, consistindo em um componente primordial da homeostase energética celular (FENOGLIO et al. 1992).

Das reservas endógenas, capazes de garantir, no jejum prolongado, a sobrevivência dos animais, as mais importantes são os triacilgliceróis depositados no tecido adiposo. As reservas de glicogênio existentes são pequenas e a sua contribuição se restringe aos períodos iniciais de jejum (MACHADO et al., 1988).

O controle das reações de transformação e uso de reservas energéticas é muito preciso e envolve hormônios, sistemas nervoso central e periférico e ainda, a própria concentração dos metabólitos na circulação. No período pós-prandial, quando há um excesso de substratos energéticos, ocorre um aumento da secreção de insulina por células beta das ilhotas pancreáticas. Ao contrário, durante o jejum, há um aumento das concentrações de glucagon, cortisol e outros hormônios, visando um aumento da disponibilidade de substratos circulantes. Neste caso, processos de transformação, como a neogliconeogênese intensificam-se. A formação de glicose a partir de outras reservas energéticas envolve o aumento da secreção de hormônios como o glucagon e do crescimento que associados à diminuição das concentrações de insulina fazem com que o ciclo lipolítico aumente, a esterificação de ácidos graxos diminua e a mobilização de ácidos graxos livres acelere. A diminuição da secreção de insulina também favorece

a quebra de proteínas musculares, liberando principalmente alanina para a gliconeogênese (MAIA, 2007).

Insulina, glucagon, adrenalina, glicocorticóides, hormônios de crescimento e tireoidianos desempenham papel central no controle do metabolismo. A ação coordenada desses hormônios é necessária para o controle da homeostase glicêmica. Taxas elevadas de glicose no sangue de animais com dieta rica em carboidratos, após a alimentação, estimulam a secreção pancreática de insulina, o que resulta em aumento da captação da glicose pelos tecidos muscular e adiposo, inibição da neoglicogênese e glicogenólise, aumento da oxidação de glicose e síntese de glicogênio no fígado e inibição da lipólise no tecido adiposo (SALTIEL & KAHN, 2001). De fato em um estudo realizado por MACHADO (1977) na tartaruga *Chrysemys dorsalis*, demonstrou-se que a administração de insulina induz uma diminuição da lipomobilização.

Animais alimentados com dietas ricas em carboidratos observa-se queda inicial da glicemia indicando que há mobilização do glicogênio hepático através da glicogenólise (TIRONE & BRUNICARDI, 2001). Animais alimentados com dietas ricas em proteínas a concentração de glicose permanece constante durante períodos curtos de jejum, devido a maior ativação da via neoglicogenética (DA SILVA & MIGLIORINI, 1990).

Em estudos realizados com peixes alimentados com dietas ricas em carboidratos foi observado decréscimo da glicemia no jejum (MACHADO et al., 1988). Gatos e ratos alimentados com dietas ricas em proteínas não apresentaram queda significativa da glicemia durante o jejum (KETTELHUT et al. 1980).

MACHADO (1977) observou, em tartarugas carnívoras da espécie *Chrysemys dorsalis*, que não houve diferenças significativas na glicemia entre os estados alimentado, jejuado de 30 dias e realimentado. Resultados semelhantes foram observados por DA SILVA & MIGLIORINI (1990), ao estudarem o metabolismo intermediário da tartaruga carnívora da espécie *Phrynops hilarii*, e por PARTATA & MARQUES (1994), em *Chrysemys dorsalis* sob jejum de 30 dias. Em tartarugas marinhas, o suprimento de glicose durante o período de restrição alimentar ocorre

mediante a neoglicogênese hepática a partir do lactato, aminoácido e glicerol (DA SILVA & MIGLIORINI, 1990).

MOON et al. (1999), observaram nas tartarugas *Chelonia mydas* e *Lepidochelys kemp*i decréscimo significativo na concentração de glicose quando submetidas ao jejum. Resultado semelhante foi observado por BONNET (1979) na tartaruga *Chelonia mydas*.

De forma semelhante DA SILVA & POLACOW (2004) na rã *Lithobates catesbeianus* espécie, carnívora, que no sétimo dia de jejum, a glicemia apresentava-se 30% abaixo daquela observada no primeiro dia e por MACHADO et al. (1988) ao estudarem o bagre (*Rhamdia hilarii*) espécie onívora, em que o decréscimo dos níveis glicêmicos já foi observado a partir do 15º dia de restrição alimentar.

PARTATA & MARQUES (1994) observaram na tartaruga (*Chrysemys dorsalis*) que o jejum por 30 dias não causou diferença significativa nas concentrações de glicogênio hepático quando comparado ao grupo controle. O mesmo foi observado por MACHADO (1977) ao estudar a mesma tartaruga no mesmo período de jejum.

Diferentemente DA SILVA & MIGLIORINI (1990) observaram uma redução significativa na síntese de glicogênio hepático e muscular na tartaruga *Phrynops hilarii* em jejum por 30 dias e DA SILVA & POLACOW (2004), na rã *Lithobates catesbeianus* durante os sete dias de restrição alimentar.

DIAS JÚNIOR (2006), constatou diminuição da glicemia em tilápias depois de 90 dias de jejum e após esse período permaneceu constante até 200 dias sem ingestão de alimentos.

A proteína, assim como a glicose, necessita de água para seu armazenamento, além de sua oxidação gerar perdas de nitrogênio. Boa parte da massa do corpo é de natureza protéica, que só é utilizada como fonte energética em situações extremas de deficiência na disponibilidade das demais reservas (MAIA, 2007). A proteína corporal é usada primeiramente como fonte de energia para a atividade neoglicogênica. Entretanto, a sua utilização decresce à medida que o jejum se prolonga, sendo essencial que ocorra tal restrição a fim de se manter para outra finalidade, níveis suficientes desse constituinte orgânico. Dessa forma, é essencial para a sobrevivência

dos animais que a maioria dos tecidos utilize os lipídeos como fonte energética durante o jejum (MACHADO et al., 1988).

No tecido muscular, a degradação das proteínas produz aminoácidos, que são transferidos ao fígado para conversão em glicose, pela via gliconeogênica. O efeito global desta liberação de aminoácidos durante o jejum é o de fornecer precursores gliconeogênicos, tanto para o fígado como para os rins, assim como prover (a partir do glutamato) precursor de amônia para os rins (TEPPERMAN, 1977). Os precursores gliconeogênicos são as cadeias carbônicas dos aminoácidos, e a eliminação dos grupos amina determina a excreção aumentada de uréia, ocorrendo indução das enzimas do ciclo da uréia e da carbamoi-fosfatase sintetase I, que podem ter suas concentrações elevadas de 10 a 20 vezes (MARZZOCO & TORRES, 2007).

Em relação à concentração de proteína plasmática nenhuma mudança significativa foi observada entre grupos controle e experimentais das tartarugas *Chelonia mydas* e *Lepidochelys kemp*i, com uma concentração variando de  $3,2 \pm 0,5$  a  $4,5 \pm 0,6$  g/dL (MOON et. al. 1999). Resultados semelhantes foram observados por BONNET (1979) no qual tartarugas marinhas jovens (*Chelonia mydas*) mostraram ligeira queda dessa concentração, mas não significativas em jejum por 5 dias.

A ureia é sintetizada no fígado a partir do grupo amina liberado pelos aminoácidos durante o catabolismo das proteínas. A maior parte é excretada pelos rins, sendo por isto utilizada como indicador do funcionamento renal nos animais ureotélicos (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Embora considerada de pouco valor diagnóstico em répteis, a determinação da ureia apresenta certa utilidade na detecção precoce da desidratação e, juntamente com o ácido úrico, encontra-se alterada nos distúrbios hídricos do organismo (DIVERS, 2000). O ácido úrico é o produto final do catabolismo primário de proteínas, nitrogênio não protéico e purinas em répteis.

WANG & NIU (2008) encontram que a tartaruga da espécie *Chinemys reevesii* podem ser ureogênicos, pois a concentração dos compostos nitrogenados analisados da urina retirada da bexiga foi aproximadamente 2,3 % de amônia, 95,8 % de ureia e 1,9 % de ácido úrico, nos animais alimentados. Quando esses animais ficaram em

jejum por quatro semanas a concentração de ureia não demonstrou nenhuma diferença significativa.

Répteis e anfíbios apresentam metabolismo nitrogenado excretório espécie dependente. Neste caso, répteis e anfíbios produzem e mantêm elevadas concentrações de ureia no sangue, o que está envolvido no controle da osmolaridade e a adaptação às condições do meio ambiente (BAZE & HORNE, 1970; BALINSKY, 1981). As tartarugas excretam amoníaco, ureia e ácido úrico em distintas proporções. As formas aquáticas excretam aproximadamente quantidades iguais de amoníaco e uréia e pouco ácido úrico. As espécies semi-aquáticas são ureotélicas e as espécies de hábitos terrestres relativamente secos são consideradas uricotélicas embora excretem de 10 a 20 % de seu nitrogênio como ureia (HILL, 1980).

Os lipídeos são as reservas energéticas mais vantajosas ao longo prazo. Como não necessitam de água para sua estocagem, são os maiores fornecedores de calorias por grama, ou seja, representam um eficiente mecanismo biológico para acumular grande quantidade de energia em um espaço pequeno (MAIA, 2007).

Os sauropsida, como outros amniotas, armazenam os lipídeos como reserva energética para sua manutenção durante períodos de estivação ou hibernação e reprodução ou em ambos os casos. O momento de armazenamento, a quantidade acumulada e a utilização da reserva de lipídeos nos testudíneos, são determinadas pela disponibilidade de alimentos, precipitações pluviométricas e mudanças de temperatura (DA SILVA, 1986).

Diversos estudos demonstraram que amniotas submetidos ao jejum apresentam mudanças significativas na quantidade de lipídeos do corpo e nas concentrações de ácidos graxos circulantes (ZAMMIT & NEWSHOLME, 1979; GROSCOLAS, 1986; DA SILVA & MIGLIORINI, 1990; NORDOY et. al., 1993; HERVANT et. al., 2001; FREITAS et. al., 2003).

O fluxo de AGL é primariamente dependente dos triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo, os quais são liberados destes, pelo processo de lipólise, e transportados para os tecidos onde serão oxidados para produção de energia (BEARDSALL et al., 2006). O aumento dos AGL no plasma inibe a utilização de glicose pelo tecido

periférico e a liberação de glicose pelo fígado. Por outro lado, o aumento da captação de AGL do plasma pelo fígado favorece o metabolismo de gordura em detrimento ao de carboidratos (PLISETSKAYA, 1980). O uso da gordura como fonte energética libera AGL, que ao desprenderem-se do glicerol, seguem ao fígado e participa do ciclo da alanina-glicose (RANDLE et al., 1963). O glicerol plasmático pode ser captado pelo fígado e fosforilado em glicerol 3-fosfato, sendo oxidado para fosfato de diidroxiacetona, o qual entra tanto na via glicolítica como na neoglicogênica (MAUGHAN et al. 2000).

Na realimentação, todos os processos metabólicos ocorridos no jejum são revertidos. A realimentação resulta na recuperação do glicogênio hepático e muscular, da glicose sanguínea, aminoácidos, lipídio do fígado, ácidos graxos livres plasmáticos, proteína total plasmática e a composição corporal (BLASCO et al., 1991; COLLINS & ANDERSON, 1995). .

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local do experimento

O experimento foi realizado no Núcleo de Estudos de Animais Silvestres da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, SP.

#### 3.2. Animais

Foram utilizadas 29 tartarugas (*Kinosternon scorpioides*) machos e fêmeas oriundas do Criadouro Científico nº 1899339/2008 do Curso de Medicina Veterinária (CMV) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, São Luís – MA. O Criadouro Científico possui autorização para atividades com finalidade científica – nº 17913-1 de 26/01/2009, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) e o experimento foi realizado de acordo com o Guia de Uso e Cuidados com Animais Laboratoriais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal (parecer nº 012217).

O experimento iniciou-se em 30/04/2009 e teve 75 dias de coleta. Os animais foram mantidos em temperatura ambiente conforme dados na tabela 1, em baia de 7X3,20 m com um tanque central com água de 1,3X0,96X0,30 m, com acesso à área seca e à água. O alimento Fri-Acqua 28<sup>1</sup> em forma peletizada, foi oferecido em dias alternados na proporção de 5% da massa corporal durante os 60 dias de aclimação que precederam o experimento, e no período de 15 dias de realimentação, conforme descrito previamente por LUZ (2004). No quadro 1 está registrada a composição do alimento, cuja análise bromatológica, foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal,

---

<sup>1</sup> Fri Ribe

Depto de Zootecnia, FCAV-UNESP, Jaboticabal - SP, segundo as normas da A.O.A.C (1990).

Quadro 1. Dados meteorológicos mensais do ano de 2009 em Jaboticabal. São Paulo, 2010.

| Mês   | Tmax (°C) | T min (°C) | T med (°C) | UR (%) |
|-------|-----------|------------|------------|--------|
| Abril | 29,5      | 17,2       | 22,2       | 74,9   |
| Mai   | 28,4      | 15,5       | 20,7       | 75,9   |
| Junho | 25,0      | 12,2       | 17,4       | 76,5   |
| Julho | 27,6      | 14,4       | 19,8       | 74,6   |

Fonte: Estação Agroclimatológica - FCAV - UNESP – Jaboticabal

Quadro 2. Composição centesimal da ração comercial peletizada expressa em porcentagem da matéria seca fornecida aos espécimes de *Kinosternon scorpioides* durante o período experimental. em Jaboticabal. São Paulo, 2010

| Composição                       | %    |
|----------------------------------|------|
| Matéria seca                     | 92,3 |
| Matéria mineral <sup>1</sup>     | 6,4  |
| Proteína bruta <sup>1</sup>      | 28,8 |
| Carboidratos totais <sup>1</sup> | 59,7 |
| Extrato etéreo <sup>1</sup>      | 5,1  |

1. Porcentagem da matéria seca

### 3.3. Delineamento experimental

Dois experimentos distintos foram conduzidos.

No experimento 1, foram utilizados 24 animais divididos em dois grupos (grupo de animais jovens e grupo de animais adultos). Cada grupo de animais passou por 5 estados alimentares: alimentado, jejuado de 15 dias, jejuado de 30 dias, jejuado de 60 dias e realimentado por 15 dias após 60 dias de jejum, constituindo cinco períodos experimentais.

O grupo de animais adultos foi constituído por 12 animais, sendo 2 machos e 10 fêmeas em período reprodutivo, com idade superior a 5 anos de idade e peso

médio $\pm$ DP de 375,8 $\pm$  24,9 g e o grupo de animais jovens foi constituído por 12 animais (sexo não identificado) com 2 anos de idade e o peso médio $\pm$ DP era de 199,60 $\pm$ 41g.

No experimento 2 foram usados 5 fêmeas de jurarás, também submetidos aos 5 estados alimentares (alimentado, jejuado de 15 dias, jejuado de 30 dias, jejuado de 60 dias e realimentado por 15 dias após 60 dias de jejum) com idade superior a 5 anos e peso médio $\pm$ DP de 442 $\pm$  17,5 g, com vistas ao sacrifício para o estudo do glicogênio e lipídeos totais hepático e muscular. O delineamento experimental do experimento 1 e 2 encontra-se esquematizado a seguir:

| Aclimação |    | Dias                         |         |    |    |              |
|-----------|----|------------------------------|---------|----|----|--------------|
|           |    | Experimento                  |         |    |    |              |
|           |    | Coleta de sangue e de tecido |         |    |    |              |
|           |    | Alimentado                   | Jejuado |    |    | Realimentado |
| 1         | 60 | 1                            | 15      | 30 | 60 | 15           |

O baixo número de animais do experimento 2 foi devido às limitações impostas pela autorização do IBAMA para a realização do estudo.

A cada período experimental, os animais foram submetidos à biometria, com tomadas das medidas do comprimento e largura da carapaça e plastrão, altura e massa corporal. Os dados biométricos foram mensurados com auxílio de paquímetro de precisão em milímetros e a massa corporal em balança de precisão.<sup>2</sup>

### 3.4. Experimento 1

Nos animais do experimento 1, foram analisadas as influências da alimentação, do jejum e do jejum seguido de realimentação, sobre as concentrações plasmáticas de glicose e uréia e as concentrações séricas de proteína, ácido úrico, triacilgliceróis e AGL.

<sup>2</sup> Filizola Max. 15 Kg e min. 125 g erro 5 g

### 3.4.1. Coleta de sangue

As amostras de sangue foram coletadas em cinco momentos. No primeiro dia do experimento com os animais no estado alimentado. No 15°, 30° e 60° dias do experimento com os animais no estado jejuado e no 15° dia de realimentação após 60 dias de jejum no estado realimentado.

Amostras de 1 mL de sangue foram obtidas do seio venoso cervical dorsal (Fig. 3) com agulhas 25x7 e seringas de 1 mL, colocando-se 0,5 mL em frasco contendo fluoreto de sódio<sup>3</sup> e 0,5 mL em frasco sem anticoagulante. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, até o momento da centrifugação. O sangue com anticoagulante fluoretado foi imediatamente centrifugado a 900 g durante 5 minutos, para aferição imediata da glicemia no Laboratório de Pesquisa do Depto de Clínica e Cirurgia– FCAV – UNESP, Jaboticabal - SP e o restante congelado a -18 ° C para posterior análise de uréia. Após a retração do coágulo as amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 900 g durante 5 minutos, obtendo-se alíquotas de soro que foram congeladas a -18 °C para posteriores análises de AGL, triacilgliceróis, ácido úrico e proteína.

---

<sup>3</sup> Glistab Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, MG.



Figura 3 - Coleta de sangue no seio venoso cervical dorsal do *Kinosternon scorpioides*

### 3.4.2. Análises Bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Patologia Veterinária e no Laboratório de Pesquisa do Depto de Clínica e Cirurgia – FCAV – UNESP, Jaboticabal, SP.

Os AGL foram quantificados por meio de kits comerciais<sup>4</sup>, determinadas por espectrofotometria modificada para leitura em placas de ELISA a 560 nm<sup>5</sup>.

O ácido úrico foi quantificado no soro pelo método enzimático proposto por TRINDER (1969) por meio de Kit Labtest Ref.: 73<sup>6</sup> e leituras espectrofotométricas a 505 nm.

As concentrações plasmáticas de glicose foram quantificadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase/peroxidase proposto por TRINDER (1969)

<sup>4</sup> Wako Chemicals NEFA HR(2), 434-91795 0108 DI, Germany

<sup>5</sup> Dynex Technologies MRXTC Plus, USA

<sup>6</sup> Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa - MG

por meio de Kit Labtest<sup>7</sup> Ref.: 84. Após 15 minutos de incubação em banho a 37°C, as absorbâncias das amostras e do padrão foram lidas em espectrofotômetro a 505nm.

A concentração plasmática de uréia foi determinada pelo método enzimático UV por meio do Kit Labtest<sup>8</sup> Ref.: 104 e leituras espectrofotométricas a 340 nm.

A dosagem de proteínas totais no soro sanguíneo foi realizada pelo método de Biureto por meio de Kit Labtest<sup>9</sup> Ref.: 99 e leituras espectrofotométricas a 546 nm.

O triacilglicerol foi quantificado pelo método enzimático proposto por TRINDER (1969) por meio de Kit Labtest<sup>10</sup> Ref.: 87 e leituras espectrofotométricas a 505 nm.

### **3.4.3. Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, constituído por 2 grupos e 5 estados. Os resultados foram obtidos por análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) mediante o uso do programa Statistical Analysis System (SAS, 2005). O software utilizado para a confecção dos gráficos foi o EXCEL 2007. Os resultados foram apresentados como valores médios  $\pm$  desvio padrão (DP), na forma de tabelas e figuras.

---

<sup>7, 8, 9, 10</sup> Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa - MG

### 3.5. Experimento 2

Nos animais do experimento 2, foram analisadas as influências da alimentação do jejum e do jejum seguido de realimentação, sobre as concentrações de glicogênio e lipídeos totais no músculo (*pectoralis major*) e fígado.

#### 3.5.1. Coleta do fígado e do músculo

Os animais foram submetidos à eutanásia com xilazina<sup>11</sup> 2 % e cloridrato de ketamina<sup>12</sup> 0,5 % na dose letal de 2 e 60 mg/100 g de peso vivo respectivamente, por via endovenosa. A eutanásia ocorreu em cinco momentos sendo um animal em cada momento, como segue: no 1 ° dia do experimento, um animal alimentado, no 15°, 30° e 60° dia após o início do experimento com os animais no estado jejuado e 1 animal realimentado por 15° dia após 60 dias de jejum

Com o uso de uma serra de aço procedeu-se à desarticulação da ponte óssea, separando o plastrão da carapaça e com material cirúrgico a remoção dos fragmentos do lobo esquerdo do fígado e dos músculos *pectoralis major*. O excesso de sangue das amostras foi absorvido com papel toalha e os fragmentos foram envoltos em papel alumínio, identificados, mantidos sob gelo moído e congelados a -70 °C para posteriores análises.

#### 3.5.2. Análises Bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal do Depto de Morfologia e Fisiologia Animal – FCAV – UNESP, Jaboticabal - SP.

As concentrações lipídicas do fígado e do músculo foram determinadas pelo método gravimétrico, como lipídeos totais, após extração com clorofórmio-metanol conforme descrito por BLIGH & DYER (1957). Utilizou-se 500 mg de tecido

---

<sup>11</sup> Coopazine – Intervet Schering-Plough

<sup>12</sup> Vetanarcol – König S.A.

homogeneizado em 5 mL de solução clorofórmio – metanol (2:1). Procedeu-se a filtração do homogeneizado e foi acrescentada água destilada na proporção 5:1. Após agitação e centrifugação a 1500 rpm, a camada lipídica de cada amostra foi transferida para uma placa de Petri, pesada e levada para uma estufa a 100 °C por 1 hora e pesada novamente, para a realização dos cálculos e obtenção da porcentagem de cada amostra.

O cálculo dos lipídeos totais presente nas amostras hepáticas e musculares foi efetuado a partir da fórmula descrita a seguir:

|                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\begin{array}{rcl} \text{VF (mL)} & \text{-----} & \text{gordura (mg)} \\ 3,3 \text{ (mL)} & \text{-----} & X \end{array}$         |
| $X \times 2 = \text{Ymg em 1.000 mg de tecido, ou seja, Ymg/g} = Y/1000 \text{ g/g} = Y/10 \text{ g/100g tecido}$ $(X \times 2)/10$ |

As concentrações de glicogênio do fígado e do músculo foram determinados conforme metodologia proposta por MOON et al. (1989). Utilizou-se 50 a 100 mg de tecido, adicionou-se 1mL de solução de ácido perclórico 6 % a amostra. Homogeneizou-se imediatamente utilizando-se o sonicador, assegurando-se que todo tecido estivesse macerado. Em seguida, foi realizada a neutralização pela adição de  $X^{13}$   $\mu\text{L}$  de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  3M. As amostras neutralizadas foram centrifugadas a 3000 g por 10 minutos a 10 ° C em centrífuga refrigerada. O sobrenadante foi desprezado, agitou-se e retirou-se 100  $\mu\text{L}$  do homogeneizado neutralizado. Realizou-se o mesmo procedimento com o branco (tampão citrato) e com os padrões (P75, P150, P300 e P600). Acrescentou-se 200  $\mu\text{L}$  de amiloglicosidase e incubou-se à temperatura ambiente por 1 hora. Em seguida foram adicionados 300  $\mu\text{L}$  de ácido perclórico 6 %. Agitou e neutralizou pela adição de  $Y^{14}$   $\mu\text{L}$  de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  2,25 M, agitando-se novamente. Seguida da centrifugação refrigerada a 3000 g por 10 minutos a 10°C. Retirou-se 20  $\mu\text{L}$  do sobrenadante neutralizado (amostras e padrões) e adicionou-se 1mL do meio de

<sup>13</sup>O volume de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  3M a ser adicionado depende do momento do preparo do reagente. Ao se preparar uma nova solução de ácido perclórico e/ou  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , o volume para a neutralização deve ser checado e o cálculo refeito, se necessário.

<sup>14</sup> O volume de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  2,25M a ser adicionado depende do momento do preparo do reagente. Ao se preparar uma nova solução de ácido perclórico e/ou  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , o volume para a neutralização deve ser checado e o cálculo refeito, se necessário.

análise de glicose Kit Labtest<sup>15</sup> e incubou-se por 18 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 505 nm.

O cálculo do glicogênio presente nas amostras hepáticas e musculares foi efetuado a partir da fórmula descrita a seguir:

$$\% = \frac{\sum[\text{Padrão}] \text{ (mg/mL)}}{\sum \text{Leitura Padrão}} \times \frac{\text{Leitura da amostra}}{\text{Massa do tecido}} \times 1,XXX \times 100$$

O valor de XXX = volume de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3M utilizado para neutralização.

---

<sup>15</sup> Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa – MG.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Experimento 1

#### 4.1.1. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração plasmática de glicose

Na tabela 1 e na figura 4, são apresentadas as médias das concentrações plasmáticas de glicose expressas em mg/dL dos grupos dos animais adultos e jovens nos estados alimentados, jejuados e realimentados.

A análise de variância pelo teste F mostra que não houve interação entre os grupos e estados alimentares estudados.

O estudo da interação para comparação das médias pelo teste de Tukey mostrou que, a partir de 30 dias de jejum houve uma diminuição significativa na concentração de glicose. Quando os animais foram realimentados por 15 dias não ocorreu reversão dos processos metabólicos.

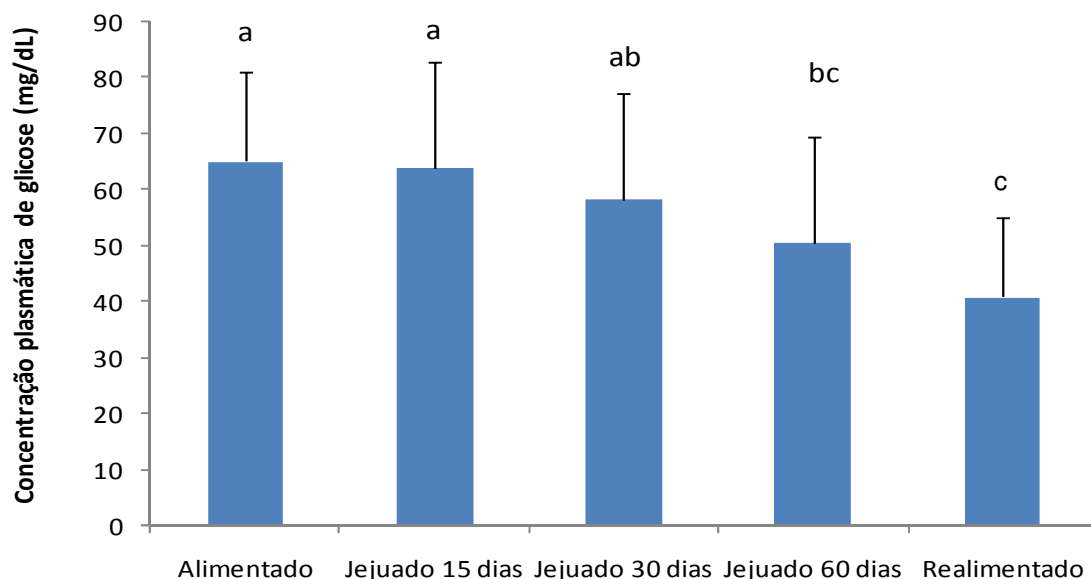


Figura 4. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado em Jaboticabal. São Paulo, 2010.

| Estatística            | Variáveis                 |                    |                           |                            |                    |
|------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------|
|                        | Glicose                   | Proteína           | Ureia                     | Triacilglicerol            | AGL                |
| F p/ G. jov. e ad (G). | 3,84**                    | 1,00 <sup>ns</sup> | 3,03**                    | 2,21*                      | 0,81 <sup>ns</sup> |
| F p/ Estados (E)       | 11,00**                   | 2,50*              | 14,22**                   | 14,43**                    | 0,79 <sup>ns</sup> |
| F em GxE               | 0,76 <sup>ns</sup>        | 1,32 <sup>ns</sup> | 1,47 <sup>ns</sup>        | 2,25 <sup>ns</sup>         | 0,75 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                 | 24,26                     | 22,01              | 45,67                     | 56,69                      | 48,77              |
| Média G. ad.           | 50,84±21,32 <sup>B</sup>  | 5,65±1,15          | 29,88±19,23 <sup>A</sup>  | 274,69±175,66 <sup>A</sup> | 0,57±0,26          |
| Média G. jov.          | 61,29±19,92 <sup>A</sup>  | 5,74±1,43          | 21,26±11,61 <sup>B</sup>  | 217,40±198,95 <sup>B</sup> | 0,53±0,26          |
| Média alim.            | 65,19±16,00 <sup>a</sup>  | 5,80±0,57          | 31,45±16,49 <sup>ab</sup> | 390,07±210,48 <sup>a</sup> | 0,51±0,24          |
| Média jej. 15 d        | 63,84±18,97 <sup>a</sup>  | 6,02±1,02          | 21,33±11,13 <sup>c</sup>  | 134,39±105,02 <sup>b</sup> | 0,63±0,31          |
| Média jej. 30 d        | 58,23±18,98 <sup>ab</sup> | 5,07±0,79          | 15,04±7,49 <sup>c</sup>   | 168,94±167,07 <sup>b</sup> | 0,55±0,27          |
| Média jej. 60 d        | 50,47±19,02 <sup>bc</sup> | 6,03±2,09          | 22,51±15,83 <sup>bc</sup> | 174,29±113,21 <sup>b</sup> | 0,58±0,26          |
| Média real.            | 40,90±14,33 <sup>c</sup>  | 5,54±1,20          | 39,17±18,74 <sup>a</sup>  | 341,17±176,37 <sup>a</sup> | 0,49±0,20          |

Médias seguidas da mesma letra (maiúscula para grupo e minúscula para estados alimentares) não diferem entre si pelo teste de Tukey  $\alpha=5\%$

\*\* P<0,01; \* P<0,05; <sup>ns</sup> Não significativo (P≥0,05)

G- grupo; ad. – adulto; jov. – jovem; alim – alimentado; jej. – jejum; real. – realimentado; d – dias.

#### 4.1.2. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de proteína

Na tabela 1 e na figura 5 são apresentadas as médias das concentrações séricas de proteína, expressa em grama por decilitro.

A análise de variância pelo teste F mostra que não houve interação entre os grupos e estados alimentares estudados.

Ao comparar-se o grupo de animais adultos com o grupo de animais jovens e a interação das médias pelo teste de Tukey, observou-se que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas ao longo dos estados alimentares analisados.

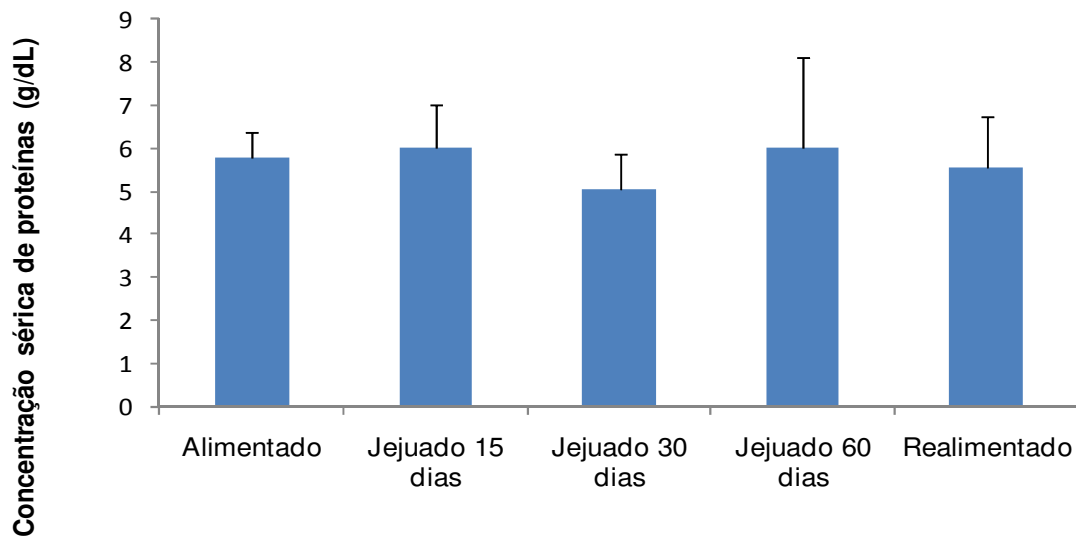


Figura 5. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de proteínas (g/dL) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

\*

#### 4.1.3. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração plasmática de ureia

Na tabela 1 e na figura 6 encontram-se os valores das concentrações plasmáticas de ureia.

A análise de variância pelo teste F mostra que não houve interação entre os grupos e estados alimentares estudados.

O estudo da interação para comparação das médias pelo teste de Tukey mostra uma redução significativa na concentração de ureia nos estados de jejum comparado aos estados alimentado e realimentado.

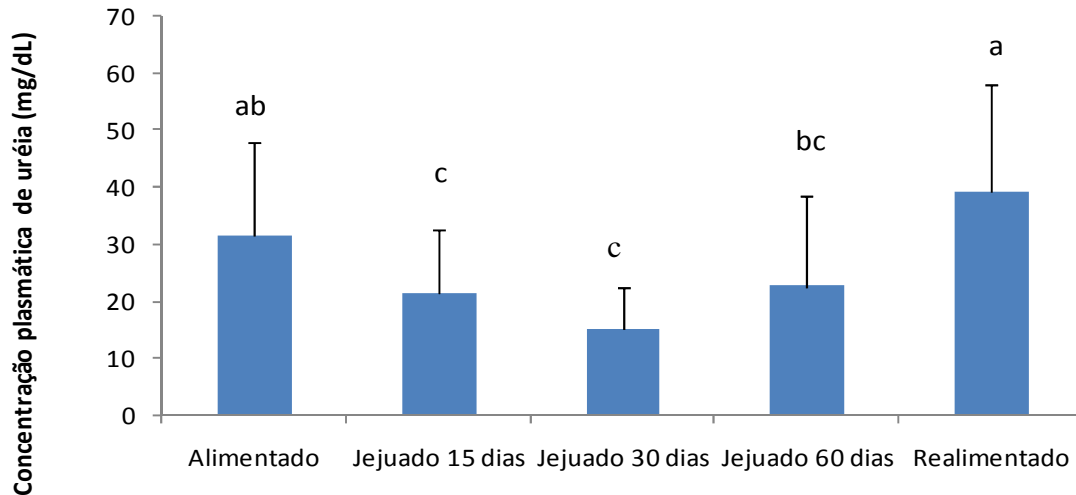


Figura 6. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração plasmática de ureia (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

#### 4.1.4. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de ácido úrico

Na tabela 2 e na figura 7 encontram-se os valores da concentração plasmática de ácido úrico.

A análise de variância pelo teste F mostra que as variáveis grupo e estados alimentares tiveram efeitos significativos sobre a concentração de ácido úrico.

O estudo da interação mostra que os dois grupos estudados (adultos e jovens) apresentam o mesmo perfil com exceção de 60 dias de jejum em que os animais jovens aumentaram significativamente a concentração sérica de ácido úrico comparado aos animais adultos.

Tabela 2. Concentração sérica de ácido úrico (mg/dL) dos grupos de animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado, em Jaboticabal. São Paulo, 2010.

| Grupo          | Estados alimentares    |                        |                        |                        |                        |
|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                | Alimentado             | Jejuado 15 d           | Jejuado 30 d           | Jejuado 60 d           | Realimentado           |
| <b>Adultos</b> | 0,63±0,11 <sup>a</sup> | 1,41±0,74 <sup>a</sup> | 0,74±0,23 <sup>a</sup> | 0,97±0,59 <sup>b</sup> | 0,84±0,21 <sup>a</sup> |
| <b>Jovens</b>  | 0,79±0,16 <sup>a</sup> | 1,18±0,25 <sup>a</sup> | 0,95±0,18 <sup>a</sup> | 1,77±0,78 <sup>a</sup> | 0,96±0,55 <sup>a</sup> |

Médias seguidas da mesma letra (minúscula na mesma coluna) para os grupos não diferem entre si pelo teste Tukey  $\alpha=5\%$

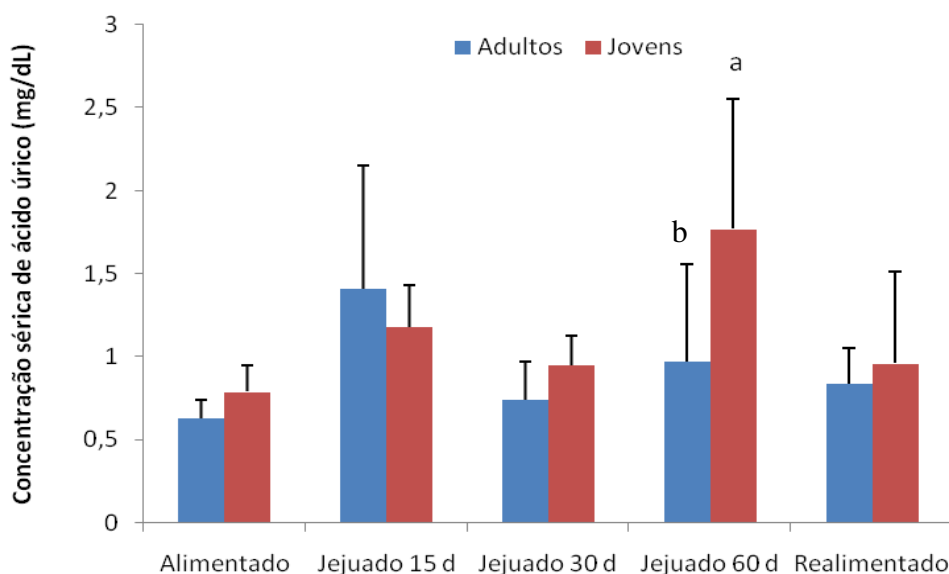


Figura 7. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de ácido úrico (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

#### 4.1.5. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre concentração sérica de triacilglicerois

Na tabela 1 e na figura 8, são apresentadas as médias das concentrações plasmáticas de triacilglicerol expressos em mg/dL dos grupos dos animais adultos e jovens nos estados alimentados, jejuados e realimentados.

A análise de variância pelo teste F mostra que não houve interação entre os grupos e estados alimentares estudados.

O estudo da interação para comparação das médias pelo teste de Tukey mostra uma redução significativa na concentração de triacilglicerol nos estados de jejum comparados aos estados alimentado e realimentado.

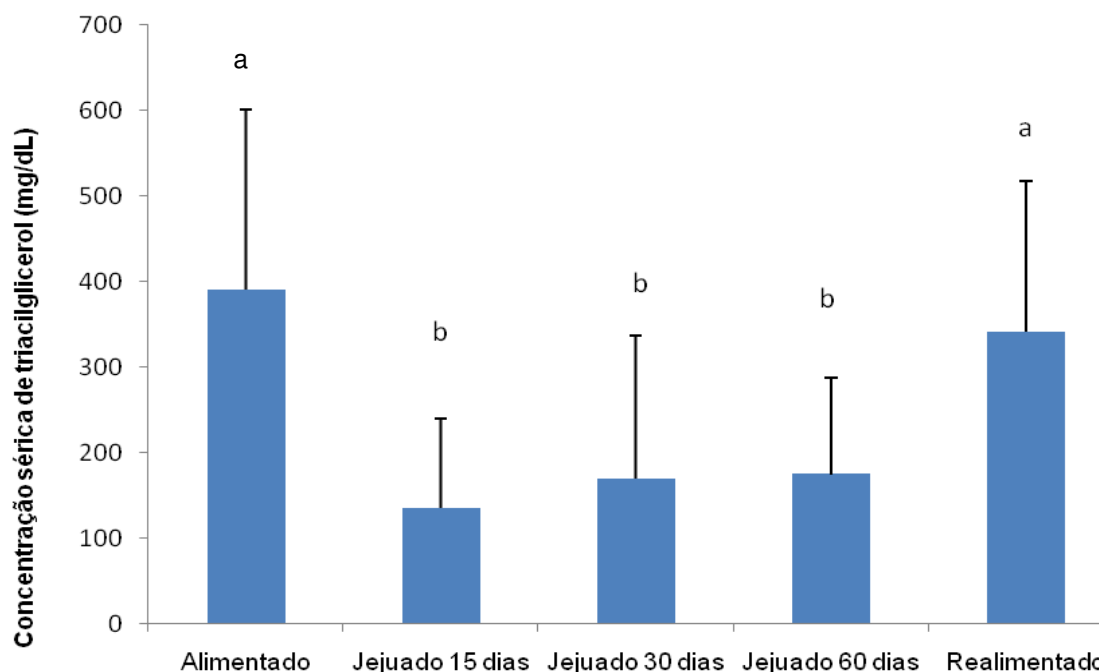


Figura 8. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica dos triacilgliceróis (mg/dL) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

#### 4.1.6. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração sérica de ácidos graxos livres

Na tabela 1 e na figura 9, são apresentadas as médias das concentrações plasmáticas de AGL expressos em  $\mu$ mol/dL dos grupos dos animais adultos e jovens nos estados alimentados, jejuados e realimentados.

A análise de variância pelo teste F mostra que não houve interação entre os grupos e estados alimentares estudados.

Ao comparar-se o grupo de animais adultos com o grupo de animais jovens e a interação das médias pelo teste de Tukey observou-se que não ocorreram diferenças

significativas ao longo dos estados alimentares analisados, entretanto observou-se uma tendência do aumento aos 15 dias de jejum.

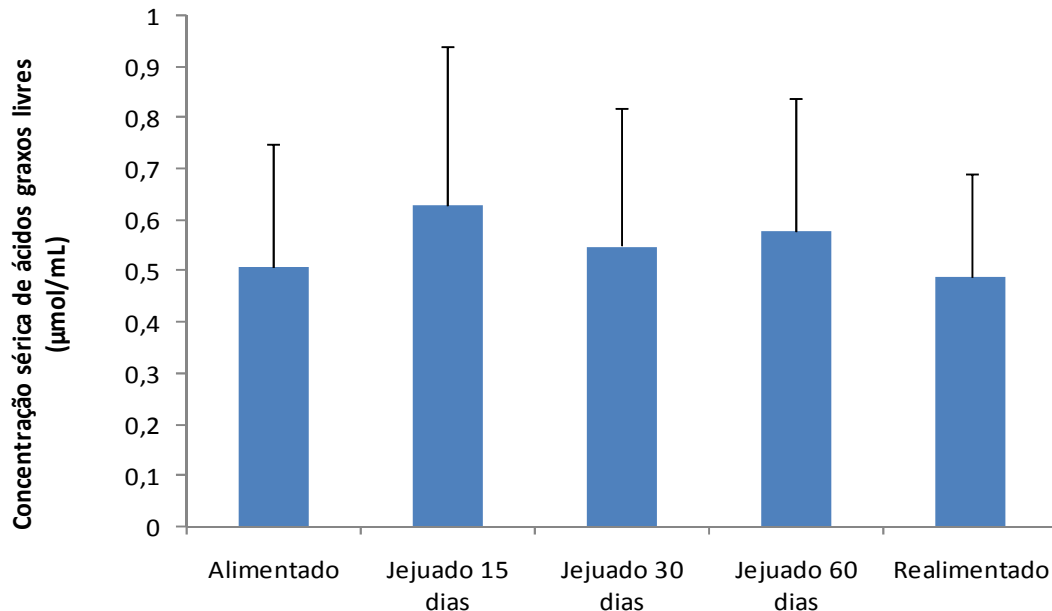


Figura 9. Representação gráfica dos valores médios ( $\pm$ DP) da concentração sérica de AGL ( $\mu\text{mol/dL}$ ) dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Letra distinta denota diferença entre os estados. (Teste de Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

## 4.2. Experimento 2

### 4.2.1. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração de glicogênio hepático e muscular

No quadro 3 e na figura 10 são apresentadas as concentrações do glicogênio hepático e muscular expressas em g/100g de tecido. O jejum induziu um declínio progressivo nas concentrações do glicogênio hepático e muscular. Apesar desses dados não terem sido analisados estatisticamente, devido ao pequeno número de animais, observou-se que aos 15 dias de jejum, o conteúdo do glicogênio hepático, apresentou queda de aproximadamente 56% e, aos 30 dias de jejum, reduziu mais 25%

aproximadamente, mantendo-se constante até os 60 dias de restrição alimentar comparado ao estado alimentado.

O glicogênio muscular também decresceu, mas não no mesmo ritmo do glicogênio hepático. Aos 15 dias de jejum houve uma queda de aproximadamente 6% e 9% aproximadamente aos 30 dias mantendo-se constante aos 60 dias de jejum. No estado realimentado após 60 dias de jejum observou-se um aumento no nível do glicogênio hepático e muscular.

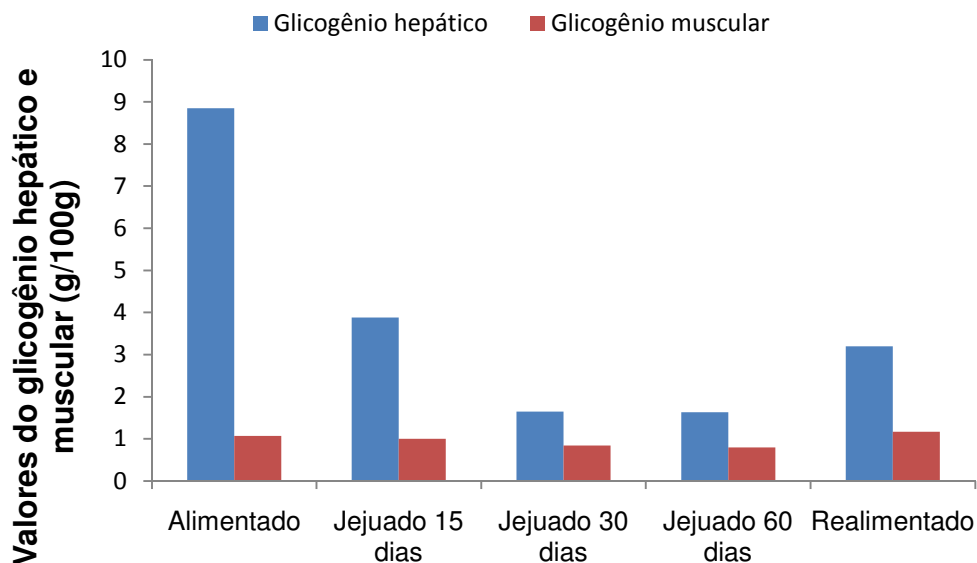


Figura 10. Representação gráfica dos valores da do glicogênio hepático e muscular (g/100g) dos animais dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado.

Quadro 3. Valores do glicogênio hepático e muscular (g/100g) da espécie *Kinosternon scorpioides* dos animais nos estados alimentado, jejuado e realimentado, em Jaboticabal. São Paulo, 2010.

| Estados         | N° de animais | Glicogênio |          |
|-----------------|---------------|------------|----------|
|                 |               | Hepático   | Muscular |
| Alimentado      | 1             | 8,85       | 1,07     |
| Jejuado 15 dias | 1             | 3,88       | 1,00     |
| Jejuado 30 dias | 1             | 1,65       | 0,84     |
| Jejuado 60 dias | 1             | 1,63       | 0,80     |
| Realimentado    | 1             | 3,20       | 1,17     |

#### 4.2.2. Efeito dos diferentes estados alimentares sobre a concentração de lipídeos totais hepático e muscular

O quadro 4 e a figura 11 apresentam as concentrações de lipídeos totais hepático e muscular dos animais nos estados alimentado, jejuado e realimentado. Em resposta ao jejum, as reservas lipídicas do fígado sofreram uma diminuição relevante somente aos 60 dias de jejum e no tecido muscular basicamente não sofreram diminuição.

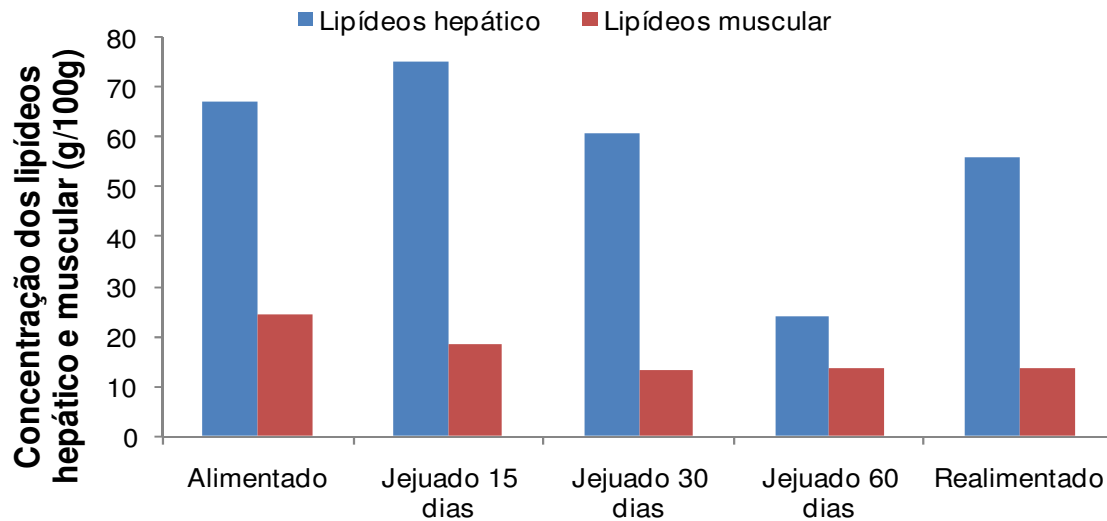


Figura 11. Representação gráfica dos valores da concentração dos lipídeos hepático e muscular (g/100g) dos animais dos animais jovens e adultos da espécie *Kinosternon scorpioides* nos estados alimentado, jejuado e realimentado.

Quadro 4. Valores dos lipídeos totais hepático e muscular (g/100g) da espécie *Kinosternon scorpioides* dos animais nos estados alimentado, jejuado e realimentado em Jaboticabal. São Paulo, 2010.

| Estados         | N° de animais | Lipídeos |          |
|-----------------|---------------|----------|----------|
|                 |               | Hepático | Muscular |
| Alimentado      | 1             | 67,10    | 24,57    |
| Jejuado 15 dias | 1             | 75,10    | 18,33    |
| Jejuado 30 dias | 1             | 60,80    | 13,20    |
| Jejuado 60 dias | 1             | 23,80    | 13,61    |
| Realimentado    | 1             | 56,20    | 13,64    |

## 5. DISCUSSÃO

No presente trabalho o efeito do jejum seguido de realimentação, cuja dieta alimentar oferecida foi rica em carboidratos, nas tartarugas *Kinosternon scorpioides* reduziu significativamente a concentração de glicose a partir dos 30 dias. Esses resultados foram semelhantes a tartarugas marinhas, peixes, aves e mamíferos nas mesmas condições alimentares.

Trabalhos que investigam o metabolismo energético em vertebrados relatam que animais alimentados com dietas ricas em carboidratos apresentam mudanças significativas na concentração de glicose e os alimentados com dietas ricas em proteínas, a concentração plasmática de glicose permanece constante (MACHADO et al. 1988, DA SILVA & MIGLIORINI, 1990, MOON et al. 1999).

A via metabólica ativada nos primeiros 15 dias de jejum das tartarugas *Kinosternon scorpioides* foi à glicogenólise hepática, responsável pela manutenção da glicose plasmática. A partir do momento em que ocorreu uma redução da concentração de glicose a via metabólica ativada foi a gliconeogênese hepática, fornecendo glicose para a circulação, pois nesse período não havia glicose circulante.

A manutenção da glicemia durante a privação alimentar está diretamente relacionada à capacidade hepática de mobilizar glicogênio, principalmente durante o período inicial do jejum, e também da ativação da neoglicogênese hepática e da redução da utilização de glicose (MOON et al. 1999).

A concentração do glicogênio hepático reduziu aos 15 dias de jejum. Essas reduções refletiram na taxa de glicemia demonstrando que a partir dos 15 de jejum a manutenção da glicemia foi mantida pelo glicogênio hepático. Os animais ao ficarem em jejum converteram o glicogênio hepático em glicose para utilizá-lo como fonte de energia. Portanto o glicogênio hepático foi utilizado durante o período de jejum para a manutenção da homeostase glicêmica. O comportamento do glicogênio demonstrou correlação positiva com as respostas da glicose, mostrando que a concentração da glicose aos 15 dias de jejum foi mantida pela gliconeogênese hepática e que a glicogenólise ocorreu logo aos primeiros dias de jejum.

Não se observou queda expressiva na concentração do glicogênio muscular. O glicogênio armazenado no músculo difere do glicogênio hepático por não ser afetado pelo tipo de dieta e, na ausência de exercício intenso, permanece praticamente constante. Esta reserva não contribui para a liberação de glicose para a circulação uma vez que a enzima glicose-6-fosfatase está ausente no músculo, contribuindo apenas para as exigências energéticas do próprio músculo e para a liberação de lactato para circulação (VILELLA, 1971).

Os AGL mostraram uma tendência de aumento somente aos 15 dias de jejum. Esses resultados estão em concordância com a mobilização dos lipídeos aos 15 de jejum e com a diminuição da síntese de triacilgliceróis no fígado nos estados jejuados. O fluxo de AGL é primariamente dependente dos triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo, os quais são liberados destes, pelo processo de lipólise, e transportados para os tecidos onde serão oxidados para produção de energia (BEARDSALL ET AL., 2006). Geralmente animais alimentados com dieta rica em carboidratos ocorrem aumento da concentração de AGL no plasma, pois é um importante indicador de lipólise durante o jejum. Em nosso trabalho isso não foi observado o que pode significar uma diminuição da síntese dos triacilgliceróis pelo fígado ou uma rápida oxidação dos AGL para produção de energia

A mobilização dos lipídeos foi mais evidente no fígado do que no músculo e a mobilização hepática foi observada aos 30 dias de jejum com sua maior evidência aos 60 dias de jejum, período em que o glicogênio hepático estava quase em depleção indicando que os lipídeos passaram a ser as únicas reservas energéticas utilizadas pelos animais. Praticamente não ocorreu diminuição da concentração dos lipídeos totais no músculo nos períodos de jejum, sugerindo que esse tecido não utilize lipídeos como reserva energética.

McCUE (2008) estudando 100 répteis jovens Squamatos ( *Crotalus atrox*, *Elaphe obsoleta*, *Python regius*, *Boa constrictor*, *Bitis gabonica* e *Varanus exanthematicus*) submetidos a 168 dias de jejum observou, em todas as espécies redução dos lipídios totais do corpo, sugerindo que os lipídeos foram catabolizados para satisfazer suas demandas energéticas durante o jejum.

De acordo com DA SILVA & MIGLIORINI (1990), os répteis, como outros vertebrados, armazenam e utilizam os lipídeos como suplemento energético para sua manutenção durante o período de estivação ou durante a reprodução ou ainda em ambos os casos. O momento de armazenamento, a quantidade acumulada e a utilização da reserva de lipídeos nos répteis, são determinadas pelas disponibilidades de alimentos, as precipitações pluviométricas e as mudanças de temperatura.

A redução significativa na concentração de triacilglicerol no estado jejuado pode ser devido à diminuição da síntese dos triacilgliceróis no fígado.

Observou-se também flutuações nas concentrações de triacilglicerol no soro das tartarugas fêmeas adultas o que possivelmente foi devido à reprodução e à exigência de armazenamento dos estoques de gordura. COSTA et al. (2009) observaram que a ovipostura do *Kinosternon scorpioides* no estado do Maranhão ocorre de abril a agosto, período em que ocorreu o experimento, o que pode significar que as flutuações na concentração de triglicerídeos podem ser devido ao período reprodutivo já que a maioria dos animais eram fêmeas. SANTOS et al. (2005), também observaram flutuações nas concentrações de triacilgliceróis de *Podocnemis expansa* com média de  $127,65 \pm 100,86$  mg/dL variando de 32 a 506 mg/dL.

MACHADO et al. (1988), ao estudarem o peixe bagre (*Rhamdia hilarii*) alimentado com dieta rica em carboidratos, observaram uma redução significativa da glicemia e um aumento do AGL aos 15 dias de jejum. Aos 30 dias de jejum a redução da glicemia foi de 40% e nos AGL o aumento foi de 80% em relação à concentração média do grupo controle.

MOON et al. (1999) trabalhando com tartarugas marinhas (*Chelonia mydas* e *Lepidochelys kempfi*), espécies onívoras com tendência a carnívoras submetidas ao jejum de 21 dias, observaram que na espécie *Chelonia mydas* a concentração de glicose do sangue decresceu 22% aos sete dias de jejum e 29% aos quatorze dias, porém 24 horas após a realimentação exibiram um aumento rápido da concentração de glicose, e na espécie *Lepidochelys kempfi* a concentração de glicose sanguínea decresceu 78 % aos sete dias de restrição alimentar e aos quatorze dias 64%. A

concentração de proteína se manteve constante durante todo o período experimental variando de 2,5 a 4,2 mg/dL.

BONNET (1979) também observou decréscimo significativo na concentração de glicose e uréia, aumento da concentração de ácido úrico enquanto a concentração de lipídeos totais e de proteínas plasmática permaneceu constante nas tartarugas da *Chelonia mydas* por cinco dias de jejum. No estado alimentado foram alimentadas com peixes duas vezes ao dia.

DA SILVA & POLACOW (2004) observaram na rã (*Lithobates catesbeianus*), espécie carnívora, com sete dias de jejum, que a glicemia apresentava-se 30% abaixo daquela observada no primeiro dia de jejum e no conteúdo de glicogênio hepático e muscular uma redução progressiva e significativa.

Entretanto PARTATA & MARQUES (1994), não encontraram diferenças significativas do glicogênio hepático e muscular aos 15 dias de jejum na tartaruga *Chrysemys dorsalis*, as quais demonstraram uma tendência de queda aos 30 dias. O mesmo foi observado por MACHADO (1977) ao estudar a mesma tartaruga no mesmo período de restrição alimentar.

DIAS JÚNIOR (2006), constatou diminuição da glicemia em tilápias vermelhas (*Oreochromis sp*) depois de 90 dias de jejum e após esse período permaneceu constante até 200 dias sem ingestão de alimentos. Nesse mesmo período ocorreu aumento de 90% na concentração dos AGL. O glicogênio hepático diminuiu 40% aos sete dias de jejum. Esses animais foram alimentados com ração comercial peletizada contendo 28% de proteína bruta.

O jejum de 30 dias na tartaruga *Phrynops hilarii* não afetou a concentração de glicose (no estado alimentado  $93 \pm 5$  mg/dL e no estado jejuado  $92 \pm 13$  mg/dL) de AGL (no estado alimentado  $0,41 \pm 0,02$  e no estado jejuado  $0,41 \pm 0,03$   $\mu\text{mol/mL}$ ), mas induziu a uma redução significativa na síntese de glicogênio e de lipídeos totais no fígado e no músculo. A constância da concentração de glicose e de AGL no sangue ocorreu em razão da dieta dos animais serem ricas em proteínas (DA SILVA & MIGLIORINI, 1990).

A concentração de proteína plasmática não sofreu alterações nos períodos de restrição alimentares analisados, mostrando que a proteína não foi utilizada na

formação de reservas energéticas e que os animais mantiveram seus processos biológicos essenciais por meio do glicogênio hepático e das reservas lipídicas.

A diminuição da uréia nos animais em restrição alimentar indica que não ocorreu mobilização das proteínas da musculatura esquelética para fornecer aminoácidos para a glicogênese.

Existem poucas informações sobre o produto final do catabolismo protéico (proteína esquelética) nesses animais. Portanto a proposta de medir a uréia pode esclarecer a intensidade da utilização da proteína esquelética.

A diminuição da concentração de ácido úrico aos 60 dias de restrição alimentar nas tartarugas da espécie *Kinosternon scorpioides* jovens demonstra que os répteis jovens são menos tolerantes a hipoglicemia que os adultos necessitando, portanto de mobilizar proteínas como precursor da neogliconeogênese.

Em organismos uricotélicos como os répteis, o ácido úrico é a principal forma na qual os amino grupos dos  $\alpha$ -aminoácidos são excretados. A via de formação do ácido úrico é complexa, visto que o anel de purina deve ser formado a partir de precursores menores.

Na tartaruga da espécie *Chrysemys picta* em jejum por oito semanas ocorreu redução na concentração de ácido úrico (RAPATZ & MUSACCHIA, 1957).

No presente trabalho a realimentação por 15 dias resultou em um aumento das concentrações de uréia, ácido úrico, glicogênio hepático e muscular e lipídeos totais hepáticos. Esses aumentos foram inferiores a concentrações do estado alimentado. Entretanto a concentração de glicose foi inferior as obtidas com as tartarugas no estado alimentado. Alguns dos metabólitos analisados (proteínas, AGL e lipídeos muscular) não apresentaram diferenças em relação ao estado alimentado e jejuado. Talvez o período de realimentação por 15 dias tenha sido insuficiente para a readaptação dos metabólitos estudados.

A tartaruga da espécie *Prynops hilarii* realimentada por 72 horas resultou em um aumento da taxa de síntese de glicose, glicogênio hepático e muscular, proteínas do fígado e insulina

## 6. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram desenvolvidos os experimentos podemos concluir:

- ◆ Na tartaruga *Kinosternon scorpioides* o jejum provocou adaptações metabólicas semelhantes às que ocorrem em peixes e répteis. O glicogênio hepático parece ter sido a primeira reserva a ser mobilizada, seguida da mobilização dos lipídeos:
- ◆ Confirmando o padrão de respostas lentas observados em peixes, o jejum de 60 dias não foi suficiente para provocar a mobilização plena das reservas lipídicas e das reservas representadas pela proteína muscular. O período de realimentação por 15 dias também mostrou-se insuficiente para a reposição das reservas energéticas parcialmente mobilizadas pelo jejum;
- ◆ Durante o jejum, provavelmente são desencadeados outros mecanismos conservadores de energia, como a diminuição da utilização periférica de glicose, o que poderia explicar a adaptação da espécie à sobrevivência em condições nutricionais e ambientais adversas.

## 7. REFERÊNCIAS

ACUÑA-MESÉN, R. Variación morfométrica y características ecológicas del habitat de la tortuga candado *Kinosternon scorpioides* em Costa Rica (Chelonia, Kinosternidade). **Revista Brasileira, de Biologia.**, Rio de Janeiro, v.54, n. 3, p. 537-547, 1994.

ANDRADE, P. C. M. **Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas.** Projeto Diagnóstico da Criação de Animais Silvestres no Estado do Amazonas. Manaus: FAPEAM/SDS, 2004. 447 p

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists.** Washington, 1990.

BALINSKY, J. B. Adaptation of nitrogen metabolism to hypertonic environments in Amphibia. **Journal of Experimental Zoology**, New York, v.215, p.335-350, 1981.

BAZE, W. B.; HORNE, F. R. Ureogenesis in chelonia. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v.34, p.91-100, 1970.

BEARDSALL, K.; WILLIAMS, R.; DUNGER, D. Applied physiology of glucose control. **Current Paediatrics**, London, v. 16, p. 434-438, 2006.

BEITZ, D. C. Metabolismo dos carboidratos. In: REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos.** 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 30, p. 462-475.

BERRY, J. F.; IVERSON, J. B. *Kinosternon scorpioides*. **Catalogue of American Amphibian and Reptiles**, v. 725. p. 1-11, 2001.

BLASCO, J.; FERNÁNDEZ, J.; GUTIÉRREZ, J.; The effects of starvation and refeeding on plasma amino acids levels of *Cyprinus carpio* L. 1758. **Journal Fish Biology**., London, v. 38, p. 587-598, 1991.

BLIGH, E. J.; DYER, N. J. Rapid method of total lipid extract purification. **Canada of Biochemistry and Physiology**, Vancouver, v.37, p. 911-917, 1957.

BONNET B. Influence of the nutritional conditions on the organic composition of blood and urine in the juvenile sea turtle *Chelonia mydas* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v.16, p. 253–260, 1979

CAHILL JÚNIOR, G. F. Starvation in man. **New England Journal of Medicine**. Massachusetts, v.282, n. 12, p. 668-675, 1970.

CASTRO, A. B. **Biologia reprodutiva e crescimento do muçã *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1776) em cativeiro**. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Pará, Belém, 2006

COLLINS, A. L.; ANDERSON, T. A. The regulation endogeneous energy stores during starvation and refeding in the somatic tissue of the golden perch. **Journal Fish**, v.47, p.1004-1015, 1995.

COSTA, F.B.; OLIVEIRA, A.S.; SOUSA, A.L.; COSTA, A.P.; ARAÚJO, A. V. C.; ROCHA, A. L.; COELHO, G. B. Aspectos biométricos correlacionados à maturidade sexual em fêmeas de Jurará (*Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766) em cativeiro. UEMA, 18, 2006, São Luis. **Anais...** 2006.

COSTA, F. B.; ALVES, F. R.; COSTA, A. P.; BARROS, A. C. E.; GUERRA, P. C.; SOUSA, A. L; OLIVEIRA, A. S. Ultrasonographic and radiographic determination of egg

development of jurarás (*Kinosternon scorpioides*) in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 10, p. 841-846, 2009.

DA SILVA, R. S. M. **Efeito do estado nutricional e da insulina sobre o metabolismo da tartaruga *Phrynops hilarii* (Chelonia, Chelidae)**. 1986. 108f. Tese (Doutorado – Programa de Pós Graduação de Fisiologia) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1986.

DA SILVA, R.S.M.; MIGLIORINI, R. H. Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic processes in the turtle (*Phrynops hilarii*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 96A. n.3, p. 415-419, 1990.

DA SILVA, C. A.; POLACOW, M. L. Perfil metabólico da Rã Touro (*Rana catesbeiana* Shaw) no jejum. **Saúde em Revista**, Piracicaba, v. 6, n.12, p. 47-52, 2004.

DIAS JUNIOR, W. **Efeito do jejum e do diabetes no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas em tilépias vermelhas (*Oreochromis sp*) (Teleostei:Cichlidae)**. 2006. 104f. Tese (Doutorado – Programa de Pós Graduação de Fisiologia). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

DIVERS, S. Reptilian renal and reproductive disease diagnosis. In: FUDGE, A. M. (Ed). **Laboratory medicine: avian and exotic pets**. Philadelphia, W. B. Saunders,. 2000. cap. 25, p. 217-222.

DIVERS, S. J.; COOPER, J. E. Reptile hepatic lipidosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, p. 153-164, 2000.

ECKERT et al. **Fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 729 p.

ERNEST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the World**. Washington, D.C.: Smithsonian Institute Press, 1989. 313 p.

FARRAR, E. S.; FRYE, B.E. Seasonal variation in the effects of adrenalin and glucagon in *Rana pipiens*. *General and Comparative Endocrinology*, v. 33, n. 1, p. 76-81, 1977.

FENOGLIO, C.; BERNNOCCHI, G.; BARNI, S. Frog hepatocyte modifications induced by seasonal variations: a morphological and cytochemical study. **Tissue and Cell.**, v. 24 n.1, p.17-29. 1992.

FITCH, H.S. **Reproductive cycles of lizards and snakes**. Lawrence.University of Kansas , 1970.

FREITAS, M.B., WELKER, A.F., MILLAN, S.F. Metabolic responses induced by fasting in the common vampire bat *Desmodus rotundus*. **Journal Comparative of Physiology**, Berlin, v. 173B, p. 703–707, 2003.

GONZÁLEZ F.H.D.; SILVA S.C.. Bioquímica clínica de glicídeos. In: **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. p.153-210.

GROSCOLAS, R., 1986. Changes in body mass, body temperature and plasma fuel level during the natural breeding fast in male and female emperor penguins *Aptendytes forsteri*. **Journal Comparative. Physiology**, Berlin, v. 156B, p. 521–527, 1986

HERVANT, F., MEATHIEU, J., DURAND, J. Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander. **Journal Experimental Biology**, Cambridge, v. 204, p. 269–281, 2001.

HILL, R. H. **Fisiologia animal comparada**. Barcelona: Reverté, 1980, p. 307-340.

KETTELLHUT, I. C.; FOSS, M.C.; MIGLIORINI, R.H. Glucose homeostasis in a carnivorous animal (cat) and in rats fed a high protein diet. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v.239, p. 437, 1980.

KING, E. J.; GARNER, R. J. Colorimetric determination of glucose. **Journal Clinical of Pathology**, London, v. 1, p. 30, 1947.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L; COX, M. M. *Princípios de bioquímica*. SãoPaulo: Sarvier, 1995, 839 p.

LEMONS. C. M. **Efeito do PD153035, um inibidor da tirosina quinase, na sinalização da insulina e metabolismo da glicose**. 2006. 135f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

LUZ, V. L. F. **Criação e conservação de quelônios e outros répteis: biologia e conservação de Quelônios de água doce e criação e comercialização de Quelônios**. Goiania: **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis – IBAMA**, 2004. 58p.

MACHADO, S. C. **Mobilização dos ácidos graxos livres em *Chrysemys dorbigni* (Reptilia, Chelonia)**. 1977, Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1977.

MACHADO, C.R., GAROFALO, M.A.R., ROSELINO, J.E.S., KETTELLHUT, I.C., MIGLIORINI, R.H. Effects of starvation, refeeding and insulin on energy-linked metabolic processes in Catfish (*Rhamdia hilarii*) adapted to a carbohydrate-rich diet. **General and Comparative Endocrinology**, CIDADE, v. 71, p. 429-437, 1988.

MAIA, A. L. T. **Respostas metabólicas e cardiovasculares induzidas pela estimulação colinérgica no núcleo paraventricular do hipotálamo.** 2007, 58f. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas) -. Universidade Federal de Minas Gerais, BeloHorizonte, MG, 2007.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica básica.** 3 ed. Rio de Janeiro: Koogan. 2007, p. 302.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do exercício e do treinamento.** São Paulo: Manole, 2000.

McCUE, M. D. Fatty acid analyses may provide insight into the progression of starvation among squamate reptiles. **Comparative Biochemistry and Physiology. Parte A,** Oxford, n.151, p. 239-246, 2008.

MOON, T. W. Adaptation, constraint and the function of the gluconeogenic pathway. **Canadian Journal of Zoology,** Ottawa, v. 66, p. 1059-1068, 1988.

MOON, T.W.; FOSTER, G.D.; PLISETSKAYA E.M. Changes in peptide hormones and liver enzymes in the rainbow trout deprived of food for 6 weeks. **Canadian Journal of Zoology,** Ottawa, v.67, p. 2189-2193, 1989.

MOON, D. Y.; OWENS, D. W.; MACKENZIE, D. S. The Effects of fasting and increased feeding on plasma thyroid hormones, glucose, and total protein in sea turtles. **Zoological science,** Tosajo, v.16, p. 579–586, 1999.

NORDOY, E.S.; AAKVAAG, A.; LARSEN, T.S. Metabolic adaptations to fasting in harp seal pups. **Physiology. Zoology,** v.66, p. 926–945, 1993.

PARTATA, W. A. & MARQUES. M.. Effects of fasting and seasonal variations in brain glycogen disposition in the turtle (*Chrysemys dorsalis*). **Comparative Biochemistry, and Physiology**., Oxford, v. 107A, p. 727-730, 1994.

PEREIRA, L. A. **Aspectos da biologia, ecologia e extrativismo *Kinosternon scorpioides* Linnaeus, 1766 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae) no município de São Bento – Baixada Maranhense** (Maranhão, Brasil). 2004. 106f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2004.

PEREIRA, L. A, SOUSA, A. L., CUTRIM, M. V. J., MOREIRA, E.G. Características ecológicas do habitat de *Kinosternon scorpioides scorpioides* Linnaeus, 1776 (Reptilia, Chelonia, Kinosternidae) no município de São Bento – Baixada Maranhense (MARANHÃO, BRASIL). **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, São Luis, v.20, p. 9-14, 2007.

PLISETSKAYA, E. Fatty acid levels in blood of cyclostomes and fish. **Environmental Biology of Fish**, Dordrecht, v. 5, p. 273-290, 1980.

POUGHT, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. S. Paulo: Atheneu, 2008. cap. 11, p. 265- 302.

PRITCHARD, P.H.C.; TREBBAU, P. “*Kinosternon scorpioides scorpioides* (LINNAEUS, 1766)”. **Society for the Study of Amphibians and Reptiles**, Venezuela, v.3. p. 239-248, 1984.

RANDLE, P. J.; GARLAND, P. B.; HALES, C. N.; NEWSHOLME, E. A. The glucose and fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbance of diabetes mellitus. **Lancet**, London, v. 1, p. 785-789, 1963.

RAPATZ, G. L.; MUSACCHIA, X. J. Metabolismo of *Crysemys picta* during fasting and during cold torpor. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 188, p. 456-460, 1957.

RUTZ, F. Metabolismo intermediário. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/ UNESP, 2002. cap. 14, p. 175-185.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid and metabolism. **Nature**, London, v. 414, p. 799-806, 2001.

SANTOS, A. L .Q.; MALTA, T. S.; MUNDIN, A. V.; ALVES JÚNIOR, J. R. F.; CARVALHO, S.F.M. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de Tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger – 1812) (TESTUDINATA) mantidas em criatório comercial. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 1-8, 2005.

SAS – STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM **SAS User's guide. Versão 9.1**. Cary. SAS Institute, 2005, Cary, NC, USA.

SOENGAS, J.L.; ALBEGUNDE, M.; ANDRÉS, M.D. Gradual transfer to sea water of rainbow trout: Effects on liver carbohydrate metabolism. **Journal of Fish Biology**, London, v.47, p.466-478, 1995.

SORIANO, E. G.; DIRZO, R.; VOGT, C.R. **História natural de Los Tuxtlas**. 1. Ed. México: Universidad Autónoma de México. 1997, 647 p.

STORER, T.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R. C.; NYBAKKEN, J. M. **Zoologia geral**. 6 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1991. p. 642-646

SUAREZ, R. K.; MOMMSEN, T. P. Gluconeogenesis in teleost fishes. **Canadian Journal Zoology**, Ottawa, Canadá, v. 65, p.1869-1882, 1987.

TEPPERMAN, J. **Fisiologia endócrina e metabólica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

TRINDER, P. Quantitative determination of triglycerides using GPO – PAP method **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 6, p. 2427, 1969.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v.6, p.24-29, 1969.

VILELA, G.G. Bioquímica do sangue. Rio de Janeiro:Odeon, 1971, 579 p.

WANG, J.; NIU, C. Effects of starvation on urinary nitrogen composition of juvenile chinese three-keeled pond turtles (*Chinemys reevesi*). **Asiatic Herpetological Research**, v. 11, p. 143-146. 2008.

ZAMMIT, V.A., NEWSHOLME, E.A., Activities of enzymes of fat and ketonebody metabolism and effects of starvation on blood concentrations of glucose and fat fuels in teleost and elasmobranch fish. **Biochemistry Journal**, Essex, v. 184, p. 313–322, 1979