



CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Interferência da variação sazonal de fatores ambientais no perfil hematológico e bioquímico metabólico de *Chelonoidis carbonarius*

Fernando Henrique Cornacini

MESTRADO



PÓS GRADUAÇÃO
EM BIOLOGIA ANIMAL

Biologia
Estrutural



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Fernando Henrique Cornacini

**Interferência da variação sazonal de fatores ambientais no perfil
hematológico e bioquímico metabólico de *Chelonoidis carbonarius***

São José do Rio Preto
2020

Fernando Henrique Cornacini

Interferência da variação sazonal de fatores ambientais no perfil hematológico e bioquímico metabólico de *Chelonoidis carbonarius*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES; FAPERP

Orientadora: Prof^a. Dr^a Claudia Regina Bonini Domingos

São José do Rio Preto
2020

C812i

Cornacini, Fernando Henrique

Interferência da variação sazonal de fatores ambientais no perfil hematológico e bioquímico metabólico de 'Chelonoidis carbonarius' / Fernando Henrique Cornacini. -- São José do Rio Preto, 2020
70 f. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Claudia Regina Bonini-Domingos

1. Jabuti. 2. Hematologia. 3. Fisiologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Fernando Henrique Cornacini

Interferência da variação sazonal de fatores ambientais no perfil hematológico e bioquímico metabólico de *Chelonoidis carbonarius*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES; FAPERP

Comissão Examinadora

Prof^a Dr^a Claudia Regina Bonini Domingos
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
(Orientadora)

Dra. Carla Bonetti Madelaire
Northern Arizona University

Prof. Dr. Rodrigo Zieri
IFSP – Instituto Federal de São Paulo – Barretos, SP

São José do Rio Preto
22 de maio de 2020

Dedicatória

Aos meus pais, **Neiva e Marcio.**
A minha irmã, **Ana Flávia.**

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Claudia Regina Bonini Domingos, por ter me aberto as portas do laboratório e, conseqüentemente, as portas do mundo da hematologia, que tanto me apaixonei. Obrigado pelos ensinamentos.

Agradeço ao Prof. Dr. Danilo, por todas as nossas conversas no laboratório. Todas as idas a sua sala para tirar uma simples dúvida sempre terminavam em uma aula excelente sobre hematologia e bioquímica. Obrigado por tudo.

Agradeço aos meus pais, Neiva e Marcio, que de sua forma, me auxiliaram na construção do profissional que sou hoje. Sou grato por cada bronca e cada apoio durante todos esses anos de dedicação.

Agradeço a minha irmã, Ana Flávia, sempre foi minha base para seguir em frente, sempre busquei ser um modelo de irmão que mostrasse para ela que sonhos podem ser realizados. Hoje é minha estrela que brilha, mas logo eu sei que a sua irá brilhar tanto quanto a minha.

Agradeço aos meus avós, Anadir, Elisa, Francisco e João, seja de perto ou de longe, eles me acompanharam em cada etapa. Sou o primeiro (mas não o único) neto formado, graduado e especializado. Que vocês tenham orgulho de mim assim como eu tenho de vocês todos.

Agradeço aos meus familiares, por sempre estarem do meu lado perguntando como estavam os estudos. Aqui em especial, dedicarei a minha madrinha Lucilene, que está comigo desde pequenino no jardim de infância até agora na minha formação profissional. Ao meu tio Vaylor e tio Sidcley, por acompanharem meu desenvolvimento acadêmico. Também não posso deixar de agradecer duas pessoas especiais para minha formação, tia Marta e tio Rogério, que não pouparam esforços para me ajudar na formação.

Agradeço aos meus primos, Gustavo, Beatriz e Bárbara, por formarem junto comigo e minha irmã, o quinteto dos primos. Crescemos juntos, cada um à sua maneira, mas todos extremamente importantes para mim.

Agradeço a minha mãezinha de consideração, Silvia. Entrou na minha vida de uma forma inesperada, que tanto me ouviu durante todos esses anos e agora não me vejo acordando sem ter sua benção.

Agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha vida, desde quando comecei a graduação até o final do mestrado. Vocês foram extremamente especiais para mim, cada uma em seu momento, cada qual com sua função. Vocês fazem parte dessa conquista.

Agradeço a todos os companheiros e companheiras de laboratório por esses anos. Aos antigo que saíram, aos novos que entraram, todos foram capazes de me ensinar algo. Em especial, agradeço a Nayara, a Pati, ao Danilo e ao Lucas. Vocês foram essenciais para tudo isso acontecer.

Agradeço as pessoas que deixavam meus dias no laboratório mais leves. Me refiro a Gabriela, Ana Clara, Larissa Dias e Raphael. Vocês foram mais que companheiros de

laboratórios, foram mais que essenciais para tudo isso. Obrigado por estarem lá por mim sempre que precisei.

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

Agradeço também a Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de São José do Rio Preto (FAPERP) pelo auxílio para a realização da pesquisa.

Por fim, mas não o menos importante, agradeço imensamente aos meus amigos que estão comigo a muito tempo, como Ariane Garcia, Juliana Lara, Rafael Rahal e Gabriela Castro; aos que entraram na minha vida recentemente, Vinícius, Natália C., Guilherme, Ederson, Samuel, Daniel, Matheus (vulgo Fio), Lívia, Natália F. e Carlos. Vocês foram como um cometa que chega sem avisar e abala toda a estrutura, obrigado por estarem comigo nessa etapa final, por estarem do meu lado em momentos difíceis e nos melhores momentos também.

A ciência nunca é feita sozinha. Cada um de vocês, com suas características específicas, formaram minha base, meu alicerce para chegar onde cheguei. Se hoje estou eu sou professor, biólogo especializado em biologia animal, saibam que vocês também são responsáveis por essa conquista.

Epígrafe

*‘ Quando a teoria científica diz que há algo de errado com tanta gente, talvez a teoria esteja errada, não as pessoas. ’
(Roughgarden, 2005)*

Resumo

O “jabuti-piranga” (*Chelonoidis carbonarius*) é um jabuti brasileiro, amplamente distribuído entre os estados do Nordeste, ocorrendo em áreas de Cerrado e campo aberto, mas também presente em recintos de zoológicos e aquários, distribuídos por todo o território nacional. São animais ectotérmicos, cujo metabolismo e fisiologia são influenciados por condições ambientais (como temperatura, umidade relativa da atmosfera e luminosidade) em magnitudes superiores aos dos animais endotérmicos, como aves e mamíferos, por exemplo. O atual trabalho tem por objetivo avaliar como esses fatores ambientais influenciam no perfil hematológico e bioquímico de “jabuti-pirangas” em cativeiro durante o período de um ano. Foi observado que machos e fêmeas diferiram no perfil hematológico, em que os primeiros apresentaram maiores valores para hematócrito, hemoglobina e eritrócito; enquanto que no perfil bioquímico, machos obtiveram maiores valores para glicose e as fêmeas para colesterol e triglicérides. Entre os meses do ano, foi possível observar menores valores para concentração de hemoglobina circulante e correspondentes índices hematimétricos nos meses de outubro e dezembro; enquanto que a concentração de colesterol e triglicérides teve aumento significativo em dezembro e junho, para machos e apenas em dezembro, para as fêmeas. Foi possível concluir que: a variação sazonal dos fatores ambientais influencia diretamente nos parâmetros hematológicos, reduzindo a concentração de hemoglobinas circulantes nos períodos de temperatura menores que a média anual; também que os componentes metabólicos bioquímicos como a glicose, colesterol e triglicérides são mais requisitados no período da primavera do hemisfério sul, quando se inicia o aumento da temperatura, umidade relativa da atmosfera e da luminosidade; e por fim, que coletas mensais de amostra sanguíneas de jabutis devem ser evitadas, a fim de não sofrer interferências futura nas análises hematológicas e bioquímicas.

Palavras-chave: Jabuti. Hematologia. Fisiologia

Abstract

The “red-footed tortoise” (*Chelonoidis carbonarius*) is a Brazilian tortoise, widely distributed among the states of the Northeast, occurring in areas of Cerrado and open fields, but also present in enclosures of zoos and aquariums, distributed throughout the national territory. They are ectothermal animals, whose metabolism and physiology are more influenced by environmental conditions (such as temperature, relative humidity and luminosity) than they are in endothermic animals, such as birds and mammals, for example. The aim of the current study is to evaluate how these environmental factors influence the hematological and biochemical profile of “red-footed tortoises” in captivity during the period of one year. It has been observed that males and females differed in the hematological profile, in which the former had higher values for hematocrit, hemoglobin and erythrocyte; whereas in the biochemical profile, males obtained higher values for glucose and females for cholesterol and triglycerides. Between the months of the year, it was possible to observe lower values for circulating hemoglobin concentration and corresponding hematimetric indices in the months of October and December; while the concentration of cholesterol and triglycerides increased significantly in December and June, in males and only in December, in females. It was possible to conclude the following: the seasonal variation of the environmental factors directly influences the hematological parameters, reducing the concentration of circulating hemoglobins in periods of lower temperature than the annual average; that biochemical metabolic components such as glucose, cholesterol and triglycerides are most required in the spring period of the southern hemisphere, when the temperature, relative humidity of the atmosphere and light increase; and monthly collections of blood samples from turtles should be avoided, so that there will be no future interference in hematological and biochemical analyzes.

Keywords: Tortoise. Hematology. Physiology

Lista de Figuras

- Figura 1.** Cladograma do *stem-group* Pantestudines junto as sinapomorfias de cada representante..... 15
- Figura 2.** Representação e nomenclatura dos escudos córneos da carapaça e do plastrão de quelônios..... 16
- Figura 3.** Representante da espécie *Chelonoidis carbonarius* (A); Escudos córneos avermelhados na região cranial dos representantes de *C. carbonarius* (B); Fêmea de *C. carbonarius* (C); Macho de *C. carbonarius* (D). 18
- Figura 4.** Esfregaço sanguíneo de *C. carbonarius*, corado com Panótico® e observado ao microscópio óptico sob óleo de imersão, em objetiva de 100x. **A.** Representação dos eritrócitos maduros (Er) e dos eritrócitos jovens, denominados policromatófilos (P). **B.** Representação dos leucócitos, como basófilo (B), azurófilo (A), heterófilo (H) e eosinófilo (E). **C.** Representação do leucócito, como o monócito (M). **D.** Representação do leucócito, como o linfócito (L). 21
- Figura 5.** Média da variação climática e pluviométrica no Município de Ilha Solteira – SP durante o ano de 2019..... 26
- Figura 6.** Recinto onde estão alojados os “jabutis-piranga” no Zoológico de Ilha Solteira – SP. 27
- Figura 7.** Gráficos com dados de temperatura (A), umidade relativa (B) e luminosidade (C), conferidos no Município de Ilha Solteira – SP, durante os períodos de coleta. 29
- Figura 8.** Coleta sanguínea por punção venosa da região marginocostal em “jabuti-piranga”. 30
- Figura 9.** Gráficos dos valores médios de hematócrito (A), hemoglobina (B) e contagem total de eritrócitos (C) entre machos e fêmeas de jabuti-piranga, durante os meses de coleta..... 35
- Figura 10.** Gráficos dos valores médios de glicose (A), colesterol (B) e triglicérides (C) entre machos e fêmeas de jabuti-piranga, durante os meses de coleta. 37
- Figura 11.** Gráfico do eritograma de “jabuti-piranga” (n=10) entre os meses de agosto/2018 a dezembro/2018. 39
- Figura 12.** **A.** Gráfico dos valores de hemoglobina de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p<0,001$); **b** versus abril ($p<0,001$); **c** versus junho ($p<0,001$); **d** versus agosto ($p<0,001$); **e** versus abril ($p<0,001$); **f** versus junho ($p<0,001$); **g** versus abril ($p<0,05$); **h** versus junho ($p<0,05$) **B.** Gráfico dos valores de VGM de “jabuti-piranga”, **a** versus agosto ($p<0,001$); **b** versus fevereiro ($p<0,05$); **c** versus abril ($p<0,05$); **d** versus agosto ($p<0,05$) **C.** Gráfico dos valores de CHGM de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p<0,001$); **b** versus dezembro ($p<0,05$); **c** versus fevereiro ($p<0,001$); **d** versus abril ($p<0,001$); **e** versus junho ($p<0,001$). **D.** Gráfico dos valores de HGM de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p<0,001$); **b** versus dezembro ($p<0,05$); **c** versus fevereiro ($p<0,001$); **d** versus abril ($p<0,001$); **e** versus junho ($p<0,001$); **f** versus agosto ($p<0,001$); **g** versus abril ($p<0,05$); **h** versus junho ($p<0,05$); **i** versus agosto ($p<0,05$). 40

- Figura 13.** Gráfico representativos dos valores de hematócrito para machos de “jabuti-piranga”, em que **a** versus agosto ($p<0,05$); **b** versus abril ($p<0,05$); **c** versus junho ($p<0,05$). 43
- Figura 14.** **A.** Gráfico dos valores de glicose de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p<0,001$); **b** versus junho ($p<0,05$). **B.** Gráfico dos valores de colesterol de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p<0,05$); **b** versus dezembro ($p<0,05$). **C.** Gráfico dos valores de triglicérides de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p<0,05$). 47
- Figura 15.** **A.** Gráfico dos valores de glicose para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p<0,05$); **b** versus outubro ($p<0,001$). **B.** Gráfico dos valores de colesterol para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus junho ($p<0,05$). **C.** Gráfico dos valores de triglicérides para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus junho ($p<0,05$). 49
- Figura 16.** **A.** Gráfico dos valores de colesterol para fêmeas de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p<0,05$); **b** versus dezembro ($p<0,001$); **c** versus abril ($p<0,05$); **d** versus dezembro ($p<0,05$); **e** versus dezembro ($p<0,05$). **B.** Gráfico dos valores de triglicérides para fêmeas de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p<0,05$). 49
- Figura 17.** Imagem da Câmara de Neubauer, demonstrando pelo círculo as duas áreas de observação para contagem das células. A direita, uma imagem microscópica da área quadriculada de um dos círculos. 64
- Figura 18.** Imagem microscópica representando o interior da Câmara de Neubauer, onde é realizada a contagem das células. Os quadrantes representados pela letra L são utilizados para contagem de leucócitos, enquanto que os quadrantes com os círculos brancos são utilizados para contagem de eritrócitos. 66
- Figura 19.** Cálculo da linearidade dos resultados da análise de glicose, colesterol e triglicérides sanguínea. 68
- Figura 20.** Princípio ativo da Glicose Liquiform (Ref.: 133) para análise de glicose no plasma sanguíneo. 69
- Figura 21.** Princípio ativo da Colesterol Liquiform (Ref.: 76) para análise de colesterol no plasma sanguíneo. 69
- Figura 22.** Princípio ativo da Triglicérides Liquiform (Ref.: 87) para análise de triglicérides no plasma sanguíneo. 70

Lista de Tabelas

Tabela 1. Média e desvio padrão da massa corpórea, medida de comprimento curvilíneo da carapaça e medida de comprimento da largura da carapaça de machos e fêmeas de <i>C. carbonarius</i> do Zoológico de Ilha Solteira – SP.	28
Tabela 2. Dados do perfil hematológico em fêmeas e machos de “jabuti-piranga”, durante os meses de coleta, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	35
Tabela 3. Dados do perfil bioquímico entre fêmeas e machos de “jabuti-piranga”, durante os meses de coleta, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	36
Tabela 4. Dados do hemograma de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 a dezembro/2018, expressos em média $\pm$ desvio padrão.....	38
Tabela 5. Dados do perfil hematológico de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	41
Tabela 6. Dados do perfil bioquímico metabólico de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	44
Tabela 7. Dados do perfil hematológico de machos de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	45
Tabela 8. Dados do perfil hematológico de fêmeas de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.	46
Tabela 9. Dados do perfil bioquímico metabólico para machos de “jabuti-piranga” (n=5) entre os meses de agosto/2018 a junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.....	48
Tabela 10. Dados do perfil bioquímico metabólico para fêmeas de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.....	48

Sumário

1.	Introdução	14
1.1.	Origem e Evolução dos Quelônios	14
1.2.	Morfologia Externa dos Quelônios.....	16
1.3.	<i>Chelonoidis carbonarius</i>	17
1.4.	Hematologia.....	19
1.4.1.	Hematologia em Quelônios	19
1.4.2.	Bioquímica Metabólica em Quelônios	22
1.5.	Justificativa Teórica	23
2.	Objetivos.....	25
2.1.	Objetivos Gerais.....	25
2.2.	Objetivos Específicos	25
3.	Metodologia.....	26
3.1.	Localização e descrição do recinto	26
3.2.	Caracterização amostral	27
3.2.1.	Seleção dos Espécimes	27
3.2.2.	Período de Coleta.....	28
3.3.	Coleta da Amostra Sanguínea	29
3.3.1.	Análise Hematológica	31
3.3.1.1.	Hematócrito (Ht).....	31
3.3.1.2.	Concentração de Hemoglobina (Hb).....	31
3.3.1.3.	Contagem Total de Células Vermelhas (RBC).....	31
3.3.1.4.	Contagem Total de Células Brancas (WBC).....	32
3.3.1.5.	Contagem Diferencial de Leucócitos.....	32
3.3.1.6.	Volume Globular Médio (VGM)	33
3.3.1.7.	Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM).....	33
3.3.1.8.	Hemoglobina Globular Média (HGM)	33
3.3.2.	Análise Bioquímica	33
3.4.	Análise Estatística	34
4.	Resultados e Discussão	35
4.1.	Comparação do perfil hematológico entre machos e fêmeas	35
4.2.	Comparação do perfil bioquímico entre machos e fêmeas	36
4.3.	Avaliação do perfil hematológico para machos e fêmeas, entre os meses de coleta	38
4.4.	Comparação do perfil bioquímico metabólico para machos e fêmeas, entre os meses de coleta	44
5.	Conclusão	53

Referências	54
ANEXO A – Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – IBILCE/UNESP)	62
ANEXO B - Hemograma	63
ANEXO C – Bioquímica Metabólica	68

1. Introdução

1.1. Origem e Evolução dos Quelônios

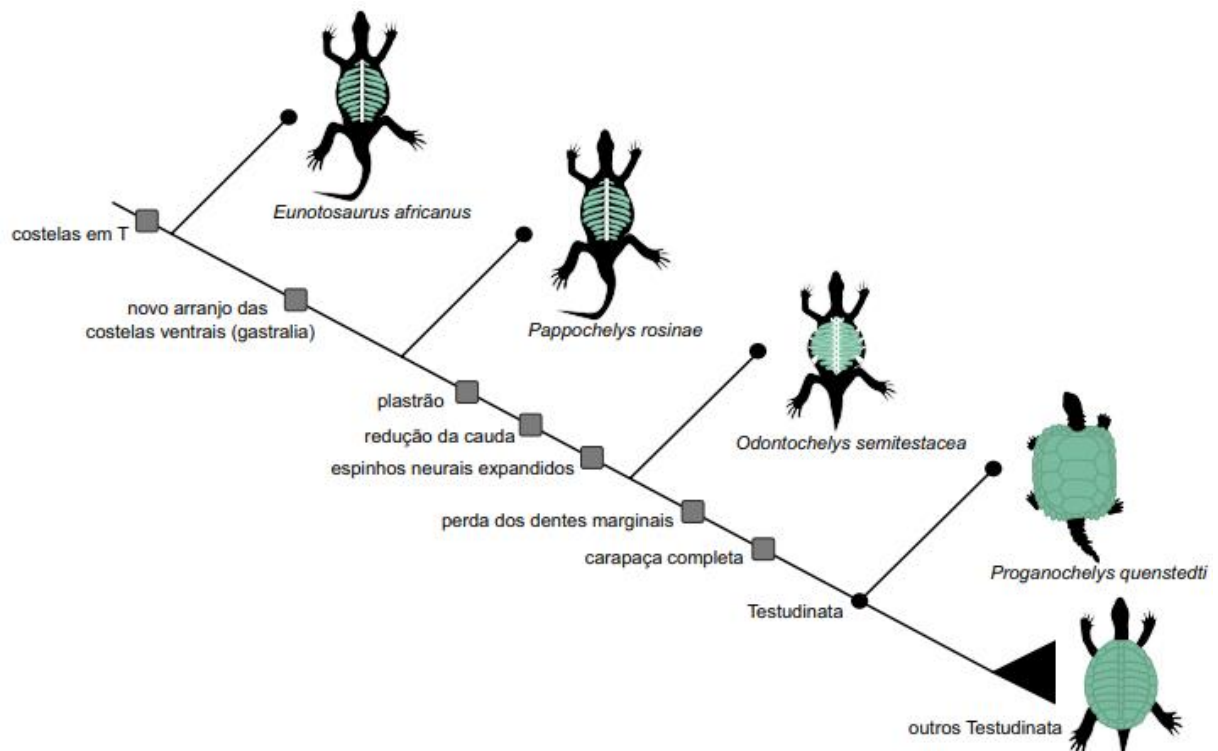
Os tetrápodes amniotas são animais caracterizados por serem adaptados ao ambiente terrestre, além de apresentarem estruturas membranosas extraembrionárias durante o desenvolvimento do embrião, como o córion e alantoide, responsáveis pelas trocas gasosas; o saco vitelínico, responsável pela nutrição do embrião; e o âmnio, responsável por proteger o embrião da desidratação e contra possíveis choques mecânicos, sendo essa estrutura, responsável pela nomenclatura do grupo dos Amniota (POUGH; JANIS; HEISER, 2013).

Os amniotas são classificados primordialmente de acordo com o número de fenestras presentes na região temporal do crânio, sendo denominados *Synapsidas*, aqueles que apresentam uma fenestra temporal, representado pelos Mammalia (mamíferos); *Diapsida*, aqueles que possuem duas fenestras temporais, representado pelos Squamata (serpentes, lagartos e tuataras) e pelos Archosauria (crocodilos e aves); e *Anapsida*, aqueles que não possuem nenhuma fenestra na região temporal, representado pelos Testudines (cágados, jabutis e tartarugas marinhas) (OSBORN, 1903; WATSON, 1914; POUGH; JANIS; HEISER, 2013). Por muito tempo, acreditava-se que o estado de caráter do crânio anápsida era uma condição primitiva, sendo as tartarugas representantes basais do grupo Reptilia (LAURIN; REISZ, 1995). No entanto, novas análises de fósseis e de espécimes por biologia molecular, confirmam que os quelônios são filogeneticamente mais próximos dos Archosauria, sendo então, o crânio anápsida dos testudines e seus representantes fósseis, uma aquisição secundária, devido a evento reversão evolutiva (MULLER, 2003; HEDGES, 2012).

O grupo Pantestudines (Figura 1) teria surgido há aproximadamente 240 milhões de anos, no período da Pangea, e pode ser considerado como *stem-group* dos Testudines, uma vez que apresentam todos os representantes extintos mais próximos dos quelônios vivos, incluindo-os (LI et al., 2018). Neste grupo estão presentes fósseis como o *Eunotosaurus africanus* (LYSON et al., 2013; LEE, 2013), representante terrestre mais ancestral dos quelônios que apresentavam costelas em T e duas fenestras na região temporal; *Pappochelys rosinae* (FERREIRA, 2016), também terrestre que além das costelas em expansão para formação da carapaça, apresentavam gastrália, ossos das costelas ventrais; *Eorhynchochelys sinensis* (LI et al., 2018), o fóssil descoberto mais recentemente, nos sedimentos chineses, que apresentavam apenas uma fenestra temporal, reforçando a hipótese da reversão do estado de caráter e preenchendo lacunas na história evolutiva dos quelônios; *Odontochelys semitestacea* (LI et al., 2008; HEISZ; HEAD, 2008), o primeiro organismo a apresentar a região do plastrão

totalmente formada, com os ossos fundidos e também o primeiro organismo a possuir estilo de vida totalmente aquático; e por fim, *Proganochelys quenstedtii* (FERREIRA, 2016), o primeiro fóssil a apresentar características como crânio anápsida, bico córneo e um casco formado pela carapaça e plastrão, sendo considerado o organismo a dar início ao que conhecemos hoje como ordem Testunides.

Figura 1. Cladograma do *stem-group* Pantestudines junto as sinapomorfias de cada representante.



Fonte: Adaptado de FERREIRA, 2016.

Os quelônios são representados por 13 famílias, 75 gêneros e 300 espécies sendo 02 famílias, 06 gêneros e 07 espécies destinadas para os representantes marinhos (CRAWFORD et al., 2015).

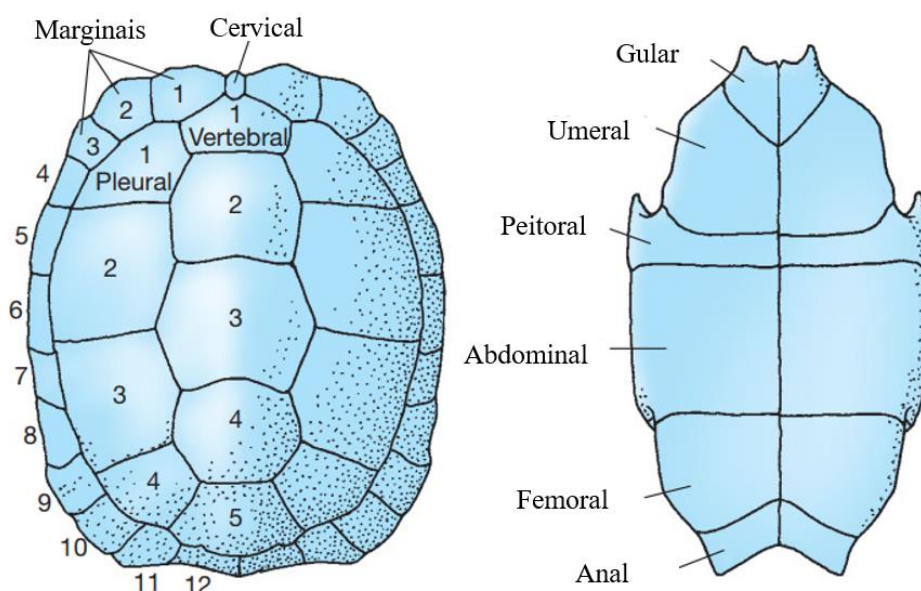
A ordem Testudines pode ser dividida em duas subordens. Os Pleurodira, quelônios com capacidade de retrain a cabeça para dentro do casco por movimentos horizontais das vértebras cervicais, e predominantemente encontrados na América do Sul. Possuem como representante principal a família Chelidae, sendo o *Phrynops geoffroanus* um dos exemplares dessa subordem, mais encontrado em rios e riachos do Brasil (POUGH; JANIS; HEISER, 2013; CRAWFORD et al., 2015; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017; ICMBIO, 2020). Os Cryptodira são testudines que retraem a cabeça para dentro do casco realizando movimentos verticais com as vértebras cervicais. São predominantes nos territórios da América do Norte,

sendo que no Brasil, temos representantes da família Testudinidae, como os jabutis brasileiros, *Chelonoidis carbonarius* e *Chelonoidis denticulatus* (POUGH; JANIS; HEISER, 2013; CRAWFORD et al., 2015; ICMBIO, 2020). Em ambos os casos, a movimentação cervical dos quelônios ocorre devido a associação das suas vértebras cervicais junto ao músculo da mandíbula, descoberta essa que, além de demonstrar a retração do pescoço para o interior do casco, auxilia no comportamento alimentar dos mesmos e reitera as relações filogenéticas anteriormente descritas (FERREIRA; WERNEBURG, 2019).

1.2. Morfologia Externa dos Quelônios

São animais caracterizados por apresentarem bico córneo, que auxilia na captura de alimento, uma vez que são desprovidos de dentes; e um casco rígido, formado por uma parte óssea e outra córnea, revestindo a primeira. Essa estrutura é dividida em carapaça, revestindo a região dorsal do animal; e plastrão, revestindo a região ventral (POUGH; JANIS; HEISER, 2013). Os escudos córneos que revestem os ossos do casco recebem nomes específicos de acordo com o local onde estão (Figura 2), sendo essa uma característica taxonômica fundamental para o grupo dos quelônios (POUGH; JANIS; HEISER, 2013; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017).

Figura 2. Representação e nomenclatura dos escudos córneos da carapaça e do plastrão de quelônios.



Fonte: Adaptado de POUGH; JANIS; HEISER, 2013.

Possuem dimorfismo sexual, em que os machos apresentam a cauda maior do que a da fêmea, pois nela está localizado o hemipênis; e uma região côncava no plastrão, permitindo o

comportamento de cópula (MOLINA, 1992; SILVA, 2015). Além disso, também diferem na morfologia das placas anais do plastrão, em que as fêmeas possuem escudos cuja abertura entre eles tenha formato mais arredondado e maior espaço entre as extremidades das placas, pois é por essa região que passarão os ovos durante o processo de nidificação, sendo, portanto, uma adaptação morfológica para a passagem dos ovos sem danificação dos mesmos (SILVA, 2015).

1.3. *Chelonoidis carbonarius*

De acordo com Simpson (1942), o grupo teria origem na África durante o período Mioceno, no momento da divisão dos supercontinentes Gondwana e Laurásia, com dispersão para os demais continentes, originando os representantes atuais dos Testudinidae.

O ancestral de *C. carbonarius* teria migrado da região da África para a América do Sul mediante as correntes marítimas (Equatorial Currents) pelo rio do Congo até o Estado do Maranhão (LE et al., 2006). Tal hipótese se sustenta devido a capacidade desses organismos flutuarem em ambientes aquáticos e que, a dispersão pelos oceanos, ter ocorrido mais de uma vez durante a história evolutiva do grupo (LE et al., 2006; FARIA et al., 2007).

Os jabutis estão presentes em diversos biomas na natureza, como regiões desérticas, ilhas, mediterrâneo e continentais (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1992; KNOTOVÁ, et al., 2002; ANDREANI, et al., 2014; BRANSON; ATKINSON; RAMOS, 2016; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017; LEWBART, et al., 2018). Na região norte da América Latina. No Brasil, estão presentes duas espécies, o *Chelonoidis carbonarius*, também conhecido como “jabuti-piranga”, amplamente distribuído entre os estados do Nordeste, ocorrendo em áreas de cerrado e campo aberto; e o *Chelonoidis denticulatus*, também conhecido como “jabuti-tinga”, distribuído entre os estados do Norte, presente em florestas densas e fechadas. Essas espécies podem ser consideradas simpátricas, pois são encontradas vivendo juntas em regiões de ecótono (FARIA et al., 2007; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017). No entanto, ambas as espécies podem estar distribuídas por todo o território nacional, sendo encontrados em recintos de zoológicos e aquários (VANZOLINI, 1999).

Os *C. carbonarius* (Figura 3A) são caracterizados por apresentarem plastrão com 12 escudos córneos, em que os escudos gulares não são comumente fendilhados e os escudos umerais são de tamanho igual ou menor que os escudos femorais; escudos da carapaça com ranhuras concêntricas, contendo 22 escudos maginais, um escudo supracaudal e escudo cervical ausente; possuem o topo da cabeça recoberta por escudos córneos de coloração avermelhada (Figura 3B); e membros coluniformes com dedos curtos e soldados, sem membrana natatória (BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017).

As fêmeas de *C. carbonarius* (Figura 3C) possuem tamanho corpóreo maior em relação aos machos da mesma espécie (Figura 3D), ao mesmo tempo que a carapaça é menor em altura. Todas essas características permitem que as fêmeas armazenem adequadamente seus ovos durante o processo reprodutivo (BARROS et al., 2012; SILVA, 2015). Além disso, assim como os demais membros do grupo, os machos diferem das fêmeas por apresentar o plastrão côncavo, permitindo a cópula, enquanto as fêmeas possuem os escudos anais mais distantes entre si com abertura em formato circular, permitindo a deposição dos ovos no ato da nidificação (MOLINA, 1992; BARROS et al., 2012; SILVA, 2015).

Figura 3. Representante da espécie *Chelonoidis carbonarius* (A); Escudos córneos avermelhados na região cranial dos representantes de *C. carbonarius* (B); Fêmea de *C. carbonarius* (C); Macho de *C. carbonarius* (D).



Fonte: Próprio autor.

O período reprodutivo dessa espécie, assim como de outros representantes do grupo Testudinidae, coincide com os meses mais quentes do ano, geralmente na primavera e no verão, que corresponde ao final e começo do ano na América Latina. Estudos como o de Rostal (1998); Schramm, Casares, Lance (1999) e Branson, Atkinson, Ramos (2016) mostraram que as tartarugas de Galápagos, que viviam em cativeiro, possuíam concentrações hormonais variadas de acordo com o período de reprodução. Os machos apresentaram picos de testosterona nos períodos mais quentes e chuvosos; enquanto as fêmeas, por sua vez, apresentavam

concentrações de estradiol no período de monta, com o ápice do hormônio no período reprodutivo (mês de dezembro, por exemplo), no tempo em que a progesterona tinha seu aumento no período da ovulação, um momento pré-cópula que acontece geralmente no mês de julho (ROSTAL, 1998; SCHRAMM; CASARES; LANCE, 1999; BRANSON; ATKINSON; RAMOS, 2016).

1.4. Hematologia

O transporte de compostos e substâncias ocorrem nos organismos, devido a presença de células específicas para essas atividades. Nos invertebrados acelomados e pseudocelomados, o transporte ocorre por células de movimentação livre pelo organismo, denominadas de amebócitos, células intersticiais ou neoblastos. Para os animais que apresentam cavidade corporal verdadeira (ou seja, os celomados), porém, ainda desprovidos de um sistema vascular, possuem como célula transportadora de elementos, os hemócitos. E, por fim, os animais celomados que desenvolveram o sistema vascular (aqui incluso todos os vertebrados) possuem células, também denominadas de elementos figurados do sangue, especializadas em realizar o transporte de gases (eritrócitos), participar da coagulação sanguínea (trombócitos) e da defesa imune (leucócitos), dando origem, com o plasma, ao tecido sanguíneo (HARTENSTEIN, 2006; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Durante o processo evolutivo nos vertebrados, houve tendência das células vermelhas do sangue diminuírem de tamanho, perderem o núcleo e assumirem formato circular e bicôncavo, sendo essa a morfologia eritrocitária dos mamíferos; que diferem dos demais representantes do grupo (peixes, anfíbios, répteis e aves) por apresentarem eritrócito oval e nucleado (CANFIELD, 1998; SNYDER; SHEAFOR, 1999).

As hemoglobinas (Hb) são proteínas encontradas dentro dos eritrócitos, possuem estrutura quaternária, formada por duas cadeias globínicas alfa e duas cadeias globínicas beta, além da presença do grupo prostético heme, responsável pelo transporte dos gases respiratórios, dentre outras funções (SCHECHTER, 2008; GELL, 2018). Mesmo tendo passado por processos de duplicações gênicas, a síntese e estrutura das hemoglobinas são conservadas dentro de vertebrados, sendo mantida, portanto, suas funções nos mais diversos organismos desse grupo (STORZ; OPAZO; HOFFMANN, 2012).

1.4.1. Hematologia em Quelônios

O sangue dos quelônios, assim como de demais répteis, é composto por células vermelhas (eritrócitos) nucleadas, responsáveis pelo transporte de oxigênio para os tecidos; por células

brancas (leucócitos), atuando na defesa imune; e pelos trombócitos, responsáveis pela coagulação sanguínea (STACY; WHITAKER, 2000; SALAKIJ et al., 2002; SILVA, 2011; PENG, et al., 2018). Há variações inter e intraespecífica desses índices, além da influência da ação antrópica sobre eles (SILVA, 2011; STACY; ALLEMAN; SAYLER, 2011).

Os eritrócitos do “jabuti-piranga” são nucleados, apresentam morfologia elíptica e são responsáveis pelo transporte dos gases oriundo dos processos respiratórios (pulmonar e celular). Seu núcleo apresenta coloração basofílica, quando corado com Panótico® e seu tempo de vida varia de 600 a 800 dias (ATLAND; BRACE, 1962; MARTINS et al., 2016). Assim como nos demais vertebrados, as hemoglobinas presentes nas células vermelhas são formadas por duas cadeias globínicas alfa e duas cadeias globínicas beta, diferindo, no entanto, por apresentarem polimorfismos na cadeia alfa, resultando na Hb D, além de apresentarem Hb A, comum aos demais vertebrados. Análises moleculares mostraram que o polimorfismo presente na cadeia globínica alfa é compartilhado com os demais representantes do grupo Testudinidae (TORSONI et al., 2002; SHISHIKURA, 2002; MELO et al., 2003; LUTFULLAH et al., 2008; MARTINS et al., 2016).

Assim como em outros répteis e até mesmo em diferentes espécies de quelônios, os leucócitos de *C. carbonarius* (Figura 4) podem ser divididos em granulócitos, caracterizados por apresentarem grânulos citoplasmáticos; que diferem dos agranulócitos, por não apresentarem grânulos no citoplasma (ALLEMAN; JACOBSON; RASKIN, 1992; KNOTKOVÁ et al., 2002; SALAKIJ et al., 2002; CHANSUE et al., 2011; SILVA, 2011; PENG et al., 2018).

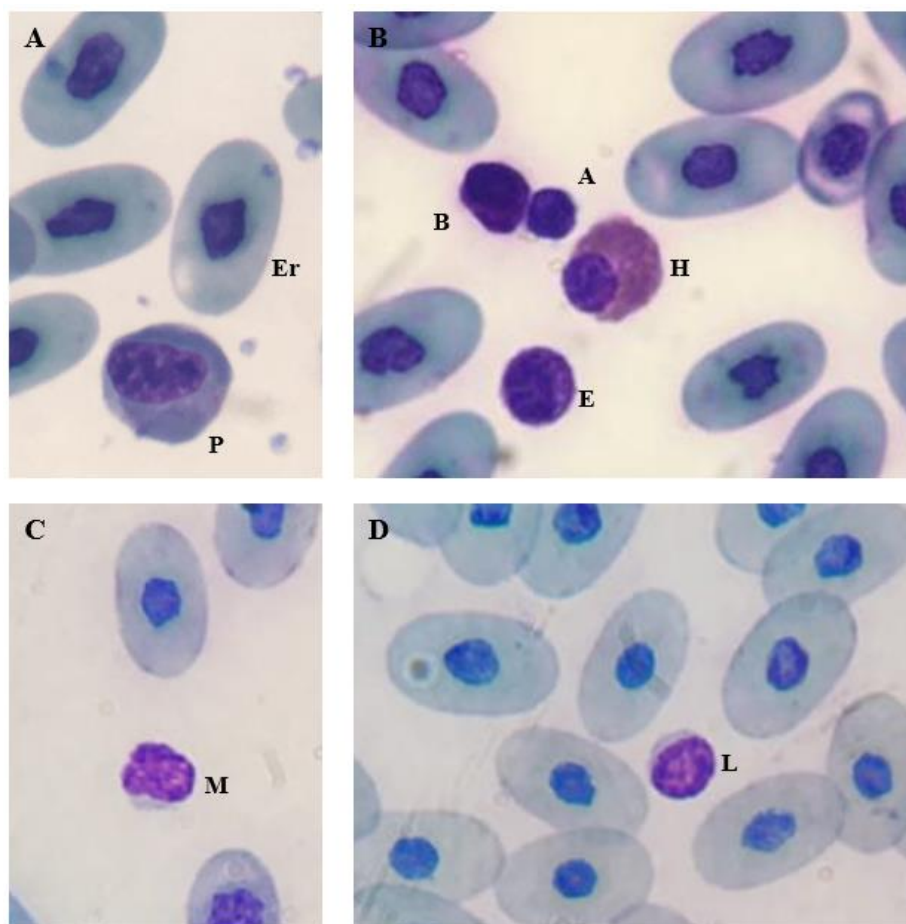
Os agranulócitos podem ser classificados como monócitos, nos quais o núcleo possui formato riniforme, de coloração roxo escuro e citoplasma roxo claro, cuja principal função está relacionada com processos de inflamação crônica e infecção causada por bactérias; linfócitos, que possuem núcleo com morfologia arredondada, de coloração roxo escuro e pequena quantidade livre de citoplasma, tendo como principal função a produção de imunoglobulinas que participam do processo de resposta imunológica; e os azurófilos, exclusivo de répteis e aves, que possuem o núcleo de coloração roxo escuro e morfologia irregular, cuja função está relacionada também nos processos inflamatórios (STACY; ALLEMAN; SAYLER, 2011; SOUSA et al., 2015; MARTINS et al., 2016).

Os granulócitos podem ser divididos em basófilo, que apresenta o núcleo, de coloração roxo escuro na região periférica da célula e citoplasma contendo grânulos de característica basofílica, também em coloração roxo, atuando principalmente em infecções virais e parasitárias, como nematódeos; eosinófilo, com núcleo periférico e de coloração roxo, porém

com grânulos de formato circular e de coloração roxo claro, sendo possível identificar e separar o citoplasma do núcleo, e cuja principal função está relacionada com a infecção por parasitas; e, por fim, o heterofilo, que possui seu núcleo posicionado periféricamente e citoplasma rico em grânulos de morfologia oval/elíptica, de coloração rosa devido a sua característica acidofílica, com função relacionada a fagocitose (ZHANG; GU; LI, 2011; SOUSA et al., 2015; MARTINS et al., 2016).

Por fim, os trombócitos presentes no sangue de “jabuti-piranga” possuem formato elíptico, cujo núcleo se encontra na região central e de coloração roxo escuro, quando corado com Panótico® e, assim como nos demais vertebrados, sua função está diretamente relacionada com a coagulação sanguínea, impedindo hemorragias intensas (SYKES; KLAPHAKE, 2008; SOUSA et al., 2015; MARTINS et al., 2016).

Figura 4. Esfregaço sanguíneo de *C. carbonarius*, corado com Panótico® e observado ao microscópio óptico sob óleo de imersão, em objetiva de 100x. **A.** Representação dos eritrócitos maduros (Er) e dos eritrócitos jovens, denominados policromatófilos (P). **B.** Representação dos leucócitos, como basófilo (B), azurófilo (A), heterofilo (H) e eosinófilo (E). **C.** Representação do leucócito, como o monócito (M). **D.** Representação do leucócito, como o linfócito (L).



Fonte: Arquivo CEQ.

A avaliação hematológica serve, também, como importante medidor da qualidade de vida nesses animais (ARTACHO et al., 2007; JOHNSTONE; LILL; REINA, 2017). Impactos ambientais causados pelos seres humanos, que resultam na alteração do ambiente, são refletidos no perfil hematológico dos quelônios, influenciando nos processos fisiológicos e metabólicos (VENANCIO et al., 2013; VENANCIO; ZUCCARI; BONINI-DOMINGOS, 2013; SOUZA, 2018). Outras condições também alteram os índices hematológicos, como sexo, idade, reprodução, etc., além de que índices da série branca podem diferir do padrão de normalidade para aqueles organismos que não estão saudáveis, pois podem estar passando por processos inflamatórios e até mesmo, desequilíbrio na dieta (SYKES; KLAPHAKE, 2008; ZHANG; GU; LI, 2011; STACY; ALLEMAN; SAYLER, 2011).

1.4.2. Bioquímica Metabólica em Quelônios

A célula constitui a unidade morfofuncional de todos os organismos vivos, sendo responsável pela morfologia e fisiologia dos mesmos. As biomoléculas são as principais ferramentas para o funcionamento das células e do organismo como um todo, desde o processo de obtenção de energia até etapas do processo reprodutivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; NELSON; COX, 2014). As macromoléculas biológicas possuem como principal constituinte químico o carbono e podem ser classificadas de acordo com as subunidades responsáveis pela sua formação, como as proteínas, formadas por polímero de aminoácidos; os polissacarídeos, que são resultado de polímero de açúcares simples, como a glicose; e os lipídeos, que são polímero de hidrocarbonetos. Todas elas possuem suas funções específicas, mas de forma geral, estão associadas a estrutura e metabolismo celular (NELSON; COX, 2014).

A síntese de glicose ocorre nos organismos autotróficos, que apresentam organelas e estruturas capazes de realizar a reação utilizando como fonte energética a luz. Durante os processos nutritivos, essa molécula pode ser transferida do vegetal para os animais, fazendo com que esses últimos, que não produzem a glicose, agora a tenham e a utilizem nos processos metabólicos (HILL; WYSE; ANDERSON, 2012; MOLLES; SHER, 2018).

A glicose pode ser considerada uma biomolécula da energia, pois ao longo do processo evolutivo foi sendo selecionada por ser a principal responsável pela produção de energia celular, via processo da fosforilação oxidativa. Quando degradada o açúcar, na forma de reagente, gera como produto da reação química, água e gás carbônico, resultando na produção de energia que será utilizada pelo organismo durante seus demais processos metabólicos e fisiológicos (NELSON; COX, 2014).

Os lipídeos são biomoléculas extremamente importantes para os organismos, atuando como cofatores enzimáticos, pigmentos fotossintetizantes, reserva energética, hormônios, agentes emulsificantes, etc. Quando em excesso, podem causar diversos problemas cardiovasculares, mas também podem indicar alguma etapa de vida do organismo, como período reprodutivo, para as sínteses hormonais (POIAN; CARVALHO-ALVES, 2005; NELSON; COX, 2014; DIAS et al., 2017).

O plasma sanguíneo dos vertebrados é caracterizado por ser um meio aquoso, devido à presença majoritária de água e também contém biomoléculas como enzimas, hormônios e substâncias alimentares, podendo essas serem encontradas dispersas no plasma ou associadas a proteínas carreadoras (SEIVERD, 1972; POIAN; CARVALHO-ALVES, 2005).

As biomoléculas que participam do metabolismo energético também estão presentes no plasma sanguíneo dos quelônios, como a glicose, cuja função está relacionada com a produção energética; bem como o colesterol e o triglicérides, dois lipídeos que atuam na reserva de energia nos períodos de escassez de alimentos, mas que também atuam na síntese dos hormônios andrógenos nesses animais (CAMPBELL, 2006; BLANVILLIAN; OWENS; KUCHLING, 2011; ARIKAN; ÇIÇEK, 2014).

1.5. Justificativa Teórica

Os quelônios são caracterizados como um dos grupos que sofrem maiores impactos das ações antrópicas, devido a atividades de despejo de esgoto residencial e industrial em córregos onde habitam, além das atividades culturais de consumo do mesmo (VENANCIO; ZUCCARI; BONINI-DOMINGOS, 2013; VASCONCELOS; OLIVEIRA; SILVA, 2019).

Ademais, nos últimos anos houve aumento do número de quelônios tratados como animais de estimação (pet). Os estudos hematológicos e bioquímicos, focados em entender o metabolismo e a fisiologia básica de animais são em sua grande maioria restrito aos animais considerados carismáticos (gatos e cachorros) ou de interesse comercial (equinos, bovinos, suínos e caprinos); sendo poucos os estudos com animais silvestres, como os reptilianos e esses, quando presentes, não são específicos para determinados grupos, como os testunides (GOULART, 2004; GARCIA-NAVARRO, 2005; CAMPBELL, 2006; CAMPBELL, 2015; PERRY; MITCHELL, 2017).

Estudos hematológicos de jabutis brasileiros são ainda mais escassos e os poucos presentes, tendem a dar enfoque apenas nas morfologias eritrocitárias, nas células leucocitária e nas análises bioquímicas separadamente (SOUSA et al., 2015; MARTINS et al., 2016; BERGAMINI, 2016).

Os “jabutis-piranga” são considerados animais de risco por conta da perda de habitat que sofrem com o desmatamento e exploração antrópica. Muito são encontrados em recintos de zoológicos oriundos do tráfico de animais silvestres e até mesmo abandono (ICMBIO, 2020). O escasso conhecimento sobre a biologia desses animais dificulta os cuidados necessários para que os mesmos tenham condições adequadas, quando presentes em recintos.

O presente trabalho busca por respostas que colaborem com o conhecimento sobre o metabolismo energético e a fisiologia dos animais encontrados em aquários e zoológicos, além de entender como a sazonalidade interfere nesses mesmos parâmetros.

2. Objetivos

2.1. Objetivos Gerais

A partir de amostras de sangue de espécimes de “jabuti-piranga” em cativeiro, objetivamos:

- a. Avaliar o perfil hematológico e o metabolismo energético entre os sexos.
- b. Avaliar a variação sazonal de temperatura, umidade relativa e luminosidade como fator interferente no perfil hematológico e no metabolismo energético desses animais.

2.2. Objetivos Específicos

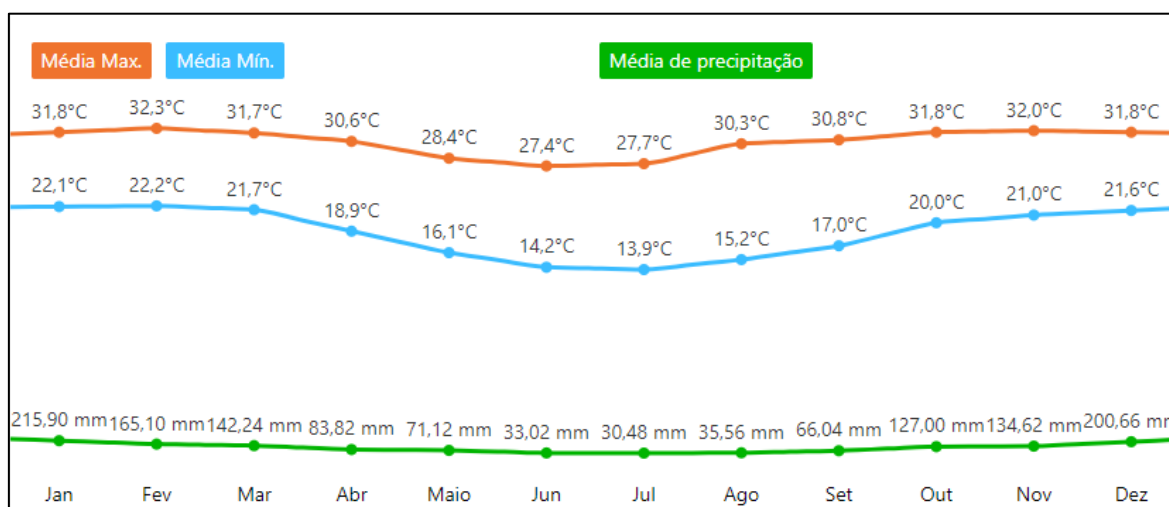
- a. Avaliar a série vermelha (hematócrito, dosagem de hemoglobina, contagem total de eritrócito e índices hematimétricos) de *C. carbonarius*, entre machos e fêmeas, no intervalo de um ano de coleta.
- b. Avaliar a série branca (contagem total de leucócitos e contagem diferencial de leucócitos) de *C. carbonarius*, entre machos e fêmeas, no intervalo de um ano de coleta.
- c. Avaliar os valores de metabólitos energéticos (glicose, triglicérides e colesterol) presentes no plasma de *C. carbonarius*, entre machos e fêmeas, no intervalo de um ano de coleta.
- d. Avaliar se há alteração nos parâmetros hematológicos e no metabolismo energético quando comparados os meses de coleta.

3. Metodologia

3.1. Localização e descrição do recinto

O Município de Ilha Solteira (20°25'58"S 51°20'33"O), localizado na divisa do Estado de São Paulo com Mato Grosso do Sul, é caracterizado por apresentar clima quente e úmido nos meses que representam as estações da primavera e verão; e clima frio e seco nos meses de outono e inverno, como representado na Figura 5.

Figura 5. Média da variação climática e pluviométrica no Município de Ilha Solteira – SP durante o ano de 2019.



Fonte: Modificado de The Weather Channel, 2020.

As coletas dos dados amostrais foram realizadas no Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira, popularmente conhecido como Zoológico de Ilha Solteira, sob supervisão do médico veterinário Dr. Lúcio de Oliveira Sousa.

O recinto (Figura 6) em que os quelônios se encontram é aberto, com solo arenoso e apresenta cobertura vegetal, resultando em um ambiente com incidência solar, mas também sombreamento pela presença das árvores. Os animais são alimentados todos os dias, com uma dieta rica em folhas, frutas e legumes (como alface, cenoura, maçã, etc.) além de receberem uma vez por semana, ração canina, para suprimento proteico; possuem à sua disponibilidade, água mineral. Além dos “jabutis-piranga”, no recinto também estavam presentes outros representantes do grupo Chelonia, como o “jabuti-tinga” (*Chelonoidis denticulatus*), “tigre-d’água” (*Trachemys scripta*) e o “cágado-de-barbelas” (*Phrynops geoffroanus*). As condições de recinto se assemelham ao ambiente natural dos jabutis, uma vez que os mesmos não estão sozinhos, precisando disputar os alimentos, mesmo que esses sejam oferecidos diariamente.

Além disso, os animais também devem competir por recursos como território e fêmeas durante o período reprodutivo, comportamento este observado durante as coletas realizadas.

Figura 6. Recinto onde estão alojados os “jabutis-piranga” no Zoológico de Ilha Solteira – SP.



Fonte: Próprio autor.

3.2. Caracterização amostral

3.2.1. Seleção dos Espécimes

Foram utilizados, mediante permissão do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – IBILCE/UNESP), protocolo nº194/2018 (ANEXO A) e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), protocolo nº48632-1, dez animais adultos, sendo cinco machos e cinco fêmeas, de *C. carbonarius*, mantidos em cativeiro no Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira.

Foram selecionados indivíduos adultos, a partir dos critérios estabelecidos por Jerozolimski (2005) e Silva (2015), ou seja, aqueles que apresentam medidas de comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) acima de 25cm, possibilitando a visualização do dimorfismo sexual, indicando que os animais atingiram a maturidade reprodutiva; e que apresentem massa igual ou superior a três quilogramas.

Os espécimes foram numerados (Tabela 1) para que fossem facilmente identificados e acompanhados ao longo do ano, e as amostras coletadas e analisadas periodicamente, durante o ciclo anual. Com o auxílio de fita métrica, foram medidos o comprimento curvilíneo da carapaça e o comprimento da largura da carapaça (CLC); além de serem pesados em todo o período de coleta, com a utilização de uma balança digital, para que fosse acompanhada a massa

corpórea durante o ciclo anual de cada indivíduo, pois além da diferença entre os sexos (por conta da reserva energética) também poderia haver variação, caso um animal não estivesse se alimentando corretamente.

Tabela 1. Média e desvio padrão da massa corpórea, medida de comprimento curvilíneo da carapaça e medida de comprimento da largura da carapaça de machos e fêmeas de *C. carbonarius* do Zoológico de Ilha Solteira – SP.

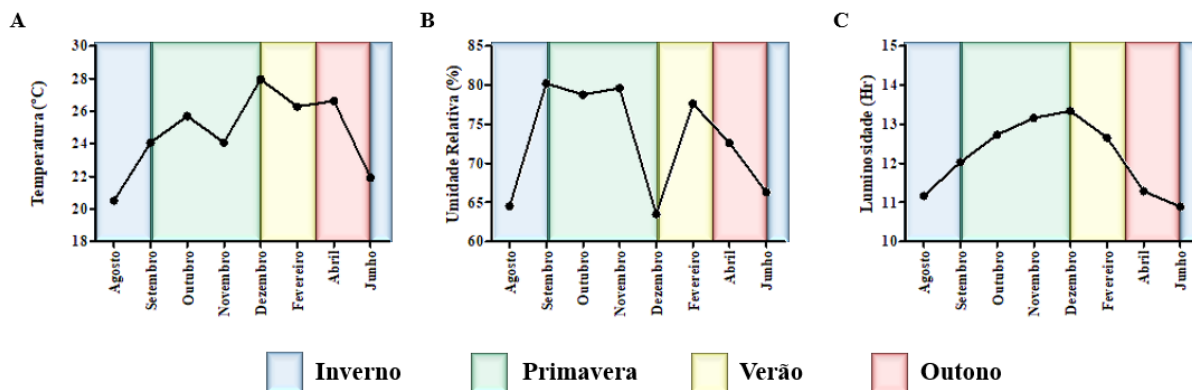
	Massa (Kg)	CCC (cm)	CLC (cm)
Fêmeas			
Jabuti 1	4,10 ± 0,38	36,00	33,00
Jabuti 2	4,59 ± 0,32	37,00	34,00
Jabuti 3	6,67 ± 0,29	44,00	41,00
Jabuti 4	7,36 ± 0,49	48,00	42,00
Jabuti 5	7,75 ± 0,48	48,00	43,00
Machos			
Jabuti 6	3,05 ± 0,45	32,00	29,00
Jabuti 7	4,90 ± 0,31	40,00	35,00
Jabuti 8	5,70 ± 0,33	43,00	36,00
Jabuti 9	6,38 ± 0,33	45,00	39,00
Jabuti 10	6,57 ± 0,28	45,00	41,00

3.2.2. Período de Coleta

O período de coleta dos dados amostrais ocorreu de agosto/2018 até julho/2019, que correspondeu ao período de um ano (12 meses), englobando todas as estações climáticas do local. Iniciou-se com coletas mensais, todas programadas para a terceira semana de cada mês. Após as análises do mês de dezembro/2018, notou-se que os animais estavam com diminuição de alguns índices hematológicos, inviabilizando a continuação de coletas mensais, passando então, a ser bimestrais.

Durante a semana das coletas, foram conferidas, em intervalos de uma hora, (08:00h até 12:00h), informações ambientais para o Município de Ilha Solteira – SP (Figura 7), como a temperatura, umidade relativa e a luminosidade, utilizando sítios de climatologia da *internet*, como The Weather Channel, acessado pelo aplicativo climatológico disponível em aparelho celular, modelo iPhone (Apple Inc.). Os dados foram apresentados em ordem cronológica das coletas.

Figura 7. Gráficos com dados de temperatura (A), umidade relativa (B) e luminosidade (C), conferidos no Município de Ilha Solteira – SP, durante os períodos de coleta.



Fonte: Modificado de The Weather Channel, 2020.

Com a visualização dos gráficos observamos uma relação entre as três variáveis, sendo que, os meses mais quentes foram consequentemente os meses mais secos e de maior tempo de luminosidade, quando comparado aos outros meses. Como por exemplo, o mês de dezembro/2018, onde a temperatura média foi de 27,96°C, umidade relativa de 63,52% e tempo de luminosidade de 13 horas 20 minutos e 24 segundos, apesar da temperatura elevada, pode ser considerado como um mês com baixa umidade atmosférica, quando comparado ao mês de setembro, cuja média foi de 80,24%.

Dados meteorológicos apontam mudança climática no final do ano de 2018 com início do evento do El Niño. Esse fenômeno é caracterizado por fazer com que o clima na região sudeste do país seja mais quente e úmido, pois as águas do Pacífico Equatorial irão esquentar, aumentando sua temperatura e trazendo consigo as chuvas para a região (GRIMM, 2004; CPTEC/INEP, 2020). No entanto, foi possível observar um comportamento atípico no mês de dezembro/2018, pois representou um verão quente e mais seco do que esperávamos, dado esse observado pelo baixo valor da umidade relativa quando comparado os demais meses e ao conhecimento do clima local, normalmente chuvoso no verão.

3.3. Coleta da Amostra Sanguínea

O manejo dos animais selecionados seguiu como descrito por Silva et al. (2012). Após coletadas as informações de medidas corpóreas e peso, a área de coleta de amostra (região marginocostal, logo após o membro anterior) era higienizada com água, esterilizada com álcool 70% e finalizada com uma segunda higienização com água destilada. Ao final da coleta, essa

mesma região era novamente esterilizada com álcool 70% e higienizada com água destilada, a fim de evitar contaminações.

A coleta ocorreu com o uso de seringa Descarpac® 5mL e agulha hipodérmica descartável Solidor® 40 x 1,2 (18G x 1 ½”); o sangue foi coletado por punção do vaso marginocostal (Figura 8), como descrito por Silva et al. (2012), e armazenado em tubos de coleta Plasticlab® contendo heparina de lítio como anticoagulante, uma vez que o mesmo não interfere nas análises propostas nesse estudo (INNIS; KNOTEK, 2020).

A quantidade de sangue a ser retirada foi calculada segundo o peso e o tamanho dos animais, para que não houvesse prejuízo fisiológico (ARIKKAN; ÇIÇEK, 2014; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017; INNIS; KNOTEK, 2020). Foram coletados 1,5mL de sangue total de cada indivíduo, por mês de coleta; as amostras foram armazenadas em ambiente refrigerado a 4°C (caixa de isopor com gelo artificial) até serem analisados no Laboratório de Hemoglobina e Genética de Doenças Hematológicas (LHGDH) / Centro de Estudos de Quelônios (CEQ), localizado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* São José do Rio Preto - SP.

Figura 8. Coleta sanguínea por punção venosa da região marginocostal em “jabuti-piranga”.



Fonte: Próprio autor.

3.3.1. Análise Hematológica

As técnicas utilizadas para realização da análise hematológica foram descritas por Bonini-Domingos; Oliveira (2017), o protocolo detalhado e o preparo das soluções utilizadas se encontram no ANEXO B.

O hemograma completo consta de:

3.3.1.1. Hematócrito (Ht)

Princípio

Verificar o volume globular, relacionando a quantidade de células com o volume de plasma, resultando na porcentagem de células no sangue.

Procedimento

Após a homogeneização da amostra, preencheu-se $\frac{3}{4}$ de um tubo capilar de microhematócrito, e uma de suas extremidades é vedada com o uso de massa de modelar. Em seguida, o tubo foi levado a centrífuga, por cerca de 5 minutos a 13.000rpm. Ao final do processo, foi feita a leitura da porcentagem de células, com o uso de um cartão próprio de referência.

3.3.1.2. Concentração de Hemoglobina (Hb)

Princípio

Quantificar a concentração de hemoglobina presente no sangue total a partir da formação de cianometahemoglobina.

Procedimento

Foi adicionado 20µL do sangue total em 5mL de solução Drabkin (1948). Após ser homogeneizada, a solução passou pelo espectrofotômetro B 395 MicroNal® para leitura da quantidade de cianometahemoglobina disponível. O valor da absorbância registrado foi multiplicado por 32,26, como fator de correção, resultando na concentração final de hemoglobina em g/dL.

3.3.1.3. Contagem Total de Células Vermelhas (RBC)

Princípio

Estimar o número absoluto de células vermelhas disponíveis em um determinado volume de sangue.

Procedimento

Com o auxílio da pipeta de Thomas (pérola vermelha), o sangue total homogeneizado foi aspirado até a graduação 1 e completado com a solução Natt & Herrick (1952) até a marca 101. Em seguida, a pipeta foi agitada com movimentos circulares suaves para que a amostra fosse diluída em proporção 1:100. Ao término da homogeneização, as primeiras gotas da pipeta foram descartadas e o restante da solução foi depositada em câmara de Neubauer; após aguardar o tempo de cinco minutos em câmara úmida, foi observada ao microscópio óptico Eclipse E200 Nikon®. Os eritrócitos foram observados na objetiva de 40x (aumento de 400 vezes) e aqueles presentes nos cinco pequenos quadrantes na área do grande quadro central foram contados e o valor final, multiplicado por 5.000, resultando na contagem total dos eritrócitos presentes por microlitro de sangue.

3.3.1.4. Contagem Total de Células Brancas (WBC)

Princípio

Estimar o número absoluto de células brancas disponíveis em um determinado volume de sangue.

Procedimento

Com o auxílio da pipeta de Thomas (pérola branca), o sangue total homogeneizado foi aspirado até a graduação 1 e completado com a solução Natt & Herrick (1952) até a marca 11. Em seguida, a pipeta foi agitada com movimentos circulares suaves para que a amostra fosse diluída em proporção 1:10. Ao término da homogeneização, as primeiras gotas da pipeta foram descartadas e o restante da solução foi depositada em câmara de Neubauer; após aguardar o tempo de cinco minutos em câmara úmida, foi observada ao microscópio óptico Eclipse E200 Nikon®. Os leucócitos foram observados na objetiva de 40x (aumento de 400 vezes) e aqueles presentes nos quatro quadros laterais da câmara foram contados e o valor final, multiplicado por 1.000, resultando na contagem total dos leucócitos presentes por microlitro de sangue.

3.3.1.5. Contagem Diferencial de Leucócitos

Princípio

Estabelecer os valores percentuais dos diferentes tipos de leucócitos presente na amostra sanguínea.

Procedimento

Com o sangue total homogeneizado, foi preparada uma lâmina de esfregaço sanguíneo e o mesmo foi corado com Panótico Hematocor-Biológica®. Em seguida, a lâmina foi observada

em microscópio óptico Eclipse E200 Nikon®, com objetiva 100x sob imersão a óleo e foram contados 100 leucócitos, anotando cada tipo diferencial. Ao final, foram estabelecidos os valores percentuais relativos de cada tipo leucocitário, em porcentagem (%).

3.3.1.6. Volume Globular Médio (VGM)

A partir dos valores obtidos nas análises do eritrograma, utilizamos fórmulas matemáticas para estimar os índices hematimétricos.

Princípio

Indica o volume médio dos eritrócitos, expresso em fentolitros (fL).

Procedimento

Obtido a partir dos valores de hematócrito (Ht) e pelo número de eritrócitos (H), de acordo com seguinte fórmula:

$$\text{VGM} = \frac{\text{Ht} \times 10}{\text{H}}$$

3.3.1.7. Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM)

Princípio

Designar o índice médio da porcentagem de hemoglobina por eritrócito em g/dL.

Procedimento

Obtido relacionando-se os valores de hemoglobina (Hb) e hematócrito (Ht), de acordo com seguinte fórmula:

$$\text{CHGM} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{Ht}}$$

3.3.1.8. Hemoglobina Globular Média (HGM)

Princípio

Indica o total de hemoglobina circulante em pg.

Procedimento

Obtido relacionando-se a concentração de hemoglobina (Hb) com o número de eritrócitos (H), de acordo com seguinte fórmula:

$$\text{HGM} = \frac{\text{Hb} \times 10}{\text{H}}$$

3.3.2. Análise Bioquímica

As análises bioquímicas e metabólicas fundamentam o estado de saúde dos animais, além de possibilitar estudos fisiológicos dos mesmos. A dosagem de metabólitos energéticos é

fundamental para compreender sua demanda de acordo com a necessidade dos organismos, estando relacionadas às diversas atividades como busca por alimentos, comportamento reprodutivo, hibernação, etc. (INNIS; KNOTE, 2020).

Para realizar a dosagem plasmática dos metabólitos foram utilizados kits comerciais da LabTest Diagnóstica S.A.®, sendo eles Glicose Liquiform (Ref.: 133), Colesterol Liquiform (Ref.: 76) e Triglicérides Liquiform (Ref.: 87). O protocolo referente a cada avaliação está presente em ANEXO C.

De modo geral, os metabólitos são determinados de acordo com a concentração de antipirilquinonimina (para glicose e colesterol) e quinoneimina (para triglicérides) presentes como produtos da reação entre o substrato a ser quantificado e o kit, pois apresentam coloração avermelhada, permitindo a leitura por espectrofotômetro em comprimento de onda de 500nm.

Foram separados três tubos de ensaio para cada animal, sendo um para cada metabólito dosado. Em cada tubo foi adicionado 1mL de reagente nº 1 do kit comercial correspondente ao substrato analisado. Em seguida, foi adicionado 10µL de plasma em cada um dos tubos, agitado vigorosamente e colocado em banho-maria a 37°C, por 10 minutos. A leitura das absorbâncias foi realizada pelo espectrofotômetro Evolution 300 UV-Visible Spectrophotometer Thermo Scientific® e o valor obtido modificado pelo fator de correção específico para cada metabólito, resultando na concentração dos mesmo em mililitro de plasma sanguíneo.

3.4. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no *software* Statistica 9.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), enquanto os gráficos foram feitos no programa GraphPad Prisma versão 5.01 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) e OriginPro 2020 (OriginLab Corporation, One Roundhouse Plaza, Northampton, MA, USA). A normalidade dos dados foi verificada usando 'Normal Probability Plots of Residuals'. Para as comparações entre os sexos foi adotado o 'General Linear Model' (GLM), no formato ANOVA. Para as comparações entre os meses do ano, foi adotado o GLM no formato ANOVA para medidas repetidas. Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão; e considerados estatisticamente significantes quando $P \leq 0,05$, representados por letras alfabéticas posicionadas na coluna com o mês de menor resultado *versus* o mês de resultado estatisticamente diferente do dele, constados na legenda respectiva de cada gráfico analisado; ou por *, quando a comparação for entre os sexos.

4. Resultados e Discussão

4.1. Comparação do perfil hematológico entre machos e fêmeas

Os dados comparativos do perfil hematológico entre machos e fêmeas estão descritos na Tabela 2.

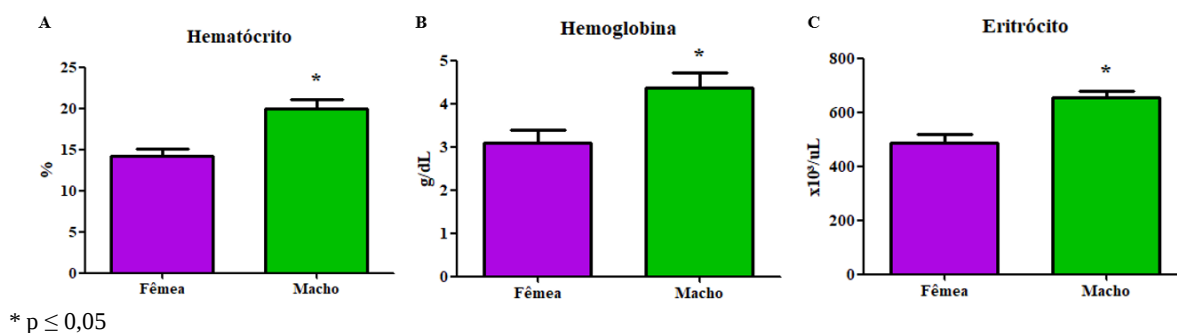
Tabela 2. Dados do perfil hematológico em fêmeas e machos de “jabuti-piranga”, durante os meses de coleta, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	Fêmeas (n = 5)	Machos (n = 5)	Valor de P
Hemograma			
Hematócrito (%)	14,17 $\pm$ 5,10	20,00 $\pm$ 5,68	0,00000*
Hemoglobina (g/dL)	3,09 $\pm$ 1,62	4,36 $\pm$ 1,92	0,02133*
Eritrócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	486,20 $\pm$ 186,40	652,80 $\pm$ 142,70	0,00083*
Leucócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	495,10 $\pm$ 177,80	529,60 $\pm$ 167,30	0,58019
Basófilo (%)	15,65 $\pm$ 7,62	13,87 $\pm$ 6,74	0,34142
Eosinófilo (%)	15,71 $\pm$ 8,24	15,47 $\pm$ 6,81	0,89992
Heterófilo (%)	27,22 $\pm$ 11,15	27,30 $\pm$ 9,53	0,97627
Azurófilo (%)	5,34 $\pm$ 5,30	3,76 $\pm$ 2,17	0,13832
Linfócito (%)	20,70 $\pm$ 7,81	21,00 $\pm$ 7,24	0,87801
Monócito (%)	17,37 $\pm$ 5,45	18,30 $\pm$ 6,11	0,53658
VGM (fL)	300,10 $\pm$ 71,03	323,30 $\pm$ 38,41	0,07675
CHGM (g/dL)	21,96 $\pm$ 8,03	21,50 $\pm$ 6,42	0,71804
HGM (pg)	67,27 $\pm$ 30,05	68,36 $\pm$ 23,84	0,93724

* $p \leq 0,05$

Na análise do perfil hematológico entre fêmeas e machos, foram encontradas diferenças nos valores de hematócrito (fêmea: 14,17 $\pm$ 5,10%; macho: 20 $\pm$ 5,68%), de hemoglobina (fêmea: 3,09 $\pm$ 1,62g/dL; macho: 4,36 $\pm$ 1,92g/dL) e da contagem total de eritrócitos (fêmea: 486,20 $\pm$ 186,40 $\times 10^3/\mu\text{L}$; macho: 652,80 $\pm$ 142,70 $\times 10^3/\mu\text{L}$), como representado pela Figura 9.

Figura 9. Gráficos dos valores médios de hematócrito (A), hemoglobina (B) e contagem total de eritrócitos (C) entre machos e fêmeas de jabuti-piranga, durante os meses de coleta.



Duguy (1970) descreve em seu trabalho que os valores hematológicos nos vertebrados sofrem influência de determinados fatores, como sexo, idade, sazonalidade, etc. Zhang, Gu e

Li (2012) foram mais específicos ao afirmarem que os parâmetros hematológicos de quelônios também sofrem influência desses fatores ambientais, fisiológicos e morfológicos. Nos jabutis do nosso estudo, o leucograma, com a contagem total de leucócito e o diferencial de leucócitos, não apresentaram diferença entre os sexos, indicando que o sistema imune desses animais responde de forma semelhante entre si. No entanto, foi possível perceber a influência do sexo nos valores de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos totais, em que os machos apresentaram os maiores valores em cada um dos parâmetros.

Tal resultado corrobora o que há descrito na literatura para os demais representantes dos quelônios, como *Testudo hermanni* (ANDREANI et al., 2014; BIELLI et al., 2015), *Hieremys annandalli* (CHANSUE et al., 2011) e *Chelonoidis gigantea* (HART et al., 1991). A comparação com a literatura mostra que, apesar da diferença entre os ambientes em que vivem (incluindo continentes) e até mesmo dentro do mesmo gênero, o sexo é um fator que influencia os parâmetros hematológicos, uma vez que os níveis de testosterona, presente em ambos os sexos, está diretamente relacionada com o metabolismo basal dos organismos (SINERVO; MILES, 2011).

4.2. Comparação do perfil bioquímico entre machos e fêmeas

Os dados comparativos do perfil bioquímico entre machos e fêmeas estão descritos na Tabela 3.

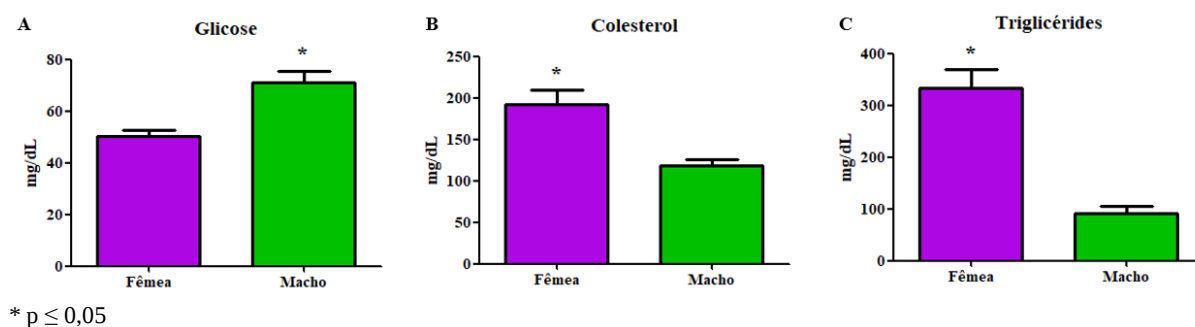
Tabela 3. Dados do perfil bioquímico entre fêmeas e machos de “jabuti-piranga”, durante os meses de coleta, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	Fêmeas (n = 5)	Machos (n = 5)	Valor de P
Bioquímica Metabólica			
Glicose (mg/dL)	50,35 $\pm$ 12,27	70,88 $\pm$ 24,90	0,00004*
Colesterol (mg/dL)	191,70 $\pm$ 97,68	118,10 $\pm$ 40,43	0,00002*
Triglicérides (mg/dL)	332,80 $\pm$ 201,80	91,62 $\pm$ 71,21	0,00000*

* $p \leq 0,05$

Quando comparados os marcadores bioquímicos metabólicos que circulam no plasma, os machos apresentaram maior concentração de glicose (70,88 $\pm$ 24,90mg/dL) enquanto que as fêmeas apresentaram maiores índices de colesterol (191,70 $\pm$ 97,68mg/dL) e triglicérides (332,80 $\pm$ 201,80mg/dL), valores representados na Figura 10.

Figura 10. Gráficos dos valores médios de glicose (A), colesterol (B) e triglicérides (C) entre machos e fêmeas de jabuti-piranga, durante os meses de coleta.



Assim como os valores hematológicos são influenciados pela sazonalidade, sexo, idade e entre outros (ZHANGO; GU; LI, 2012), os marcadores bioquímicos metabólicos também apresentaram essa característica de influência pelo sexo, como pode ser visto nos gráficos acima.

Campbell (2006) traz em seus estudos que os metabólitos circulantes na corrente sanguínea dos reptilianos varia muito entre os grupos. Nos quelônios esse comportamento não distingue-se dos demais representantes, quando analisados os resultados de Lagarde et al. (2003), Chansue et al. (2011) e Lewbart (2018), que mostraram diferença significativa entre glicose, colesterol e triglicérides entre os indivíduos machos e fêmeas de distintas espécies de quelônios. Sibeaux et al. (2016), no entanto mostraram o contrário, que esses marcadores não diferiram entre os sexos de *Testudo hermanni hermanni*, comprovando a teoria de que os metabólitos bioquímicos são influenciados pelo sexo e alteram entre os indivíduos de uma mesma espécie, por conta de fatores como a idade, alimentação, etc.

Por fim, Bergamini (2015) descreve que o comportamento bioquímico metabólico em *C. carbonarius* segue os demais grupos acima citados, onde os machos apresentaram os maiores valores de glicose sanguínea, enquanto que as fêmeas apresentaram índices elevados de colesterol e triglicérides. Os dados encontrados em nosso estudo corroboram esses resultados da literatura. Os elevados valores de gordura nas fêmeas contribuem para que as mesmas apresentem a maior massa corpórea, como pode ser observado na Tabela 1, em que as fêmeas apresentaram maior massa corpórea ($6,09 \pm 1,54\text{Kg}$) quando comparada aos machos ($5,32 \pm 1,33\text{Kg}$); pois são responsáveis pelo processo da vitelogênese, atuando na síntese do ovo, que apresenta o vitelo como material energético, rico em compostos lipídicos (VAZOLINI, 1999; TEIXEIRA, 2009; SILVA, 2015).

Os trabalhos apresentam diferentes metodologias para dosagem dos compostos metabólicos bioquímicos. No entanto, eles se assemelham ao utilizarem o plasma sanguíneo como fonte do recurso, além de adotarem técnicas de dosagem colorimétrica via espectrofotômetro e não enzimática. Por fim, os resultados são todos expressos em mg/dL e, aqueles que apresentavam unidade de medida diferente do padrão, era possível realizar a conversão para que pudesse ser feita a comparação entre os mesmos. Sendo assim, as diferentes metodologias utilizadas não teriam influência nos resultados comparados.

4.3. Avaliação do perfil hematológico para machos e fêmeas, entre os meses de coleta

As análises dos dados coletados entre os meses de agosto/2018 a dezembro/2018 estão representadas na Tabela 4.

Tabela 4. Dados do hemograma de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 a dezembro/2018, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

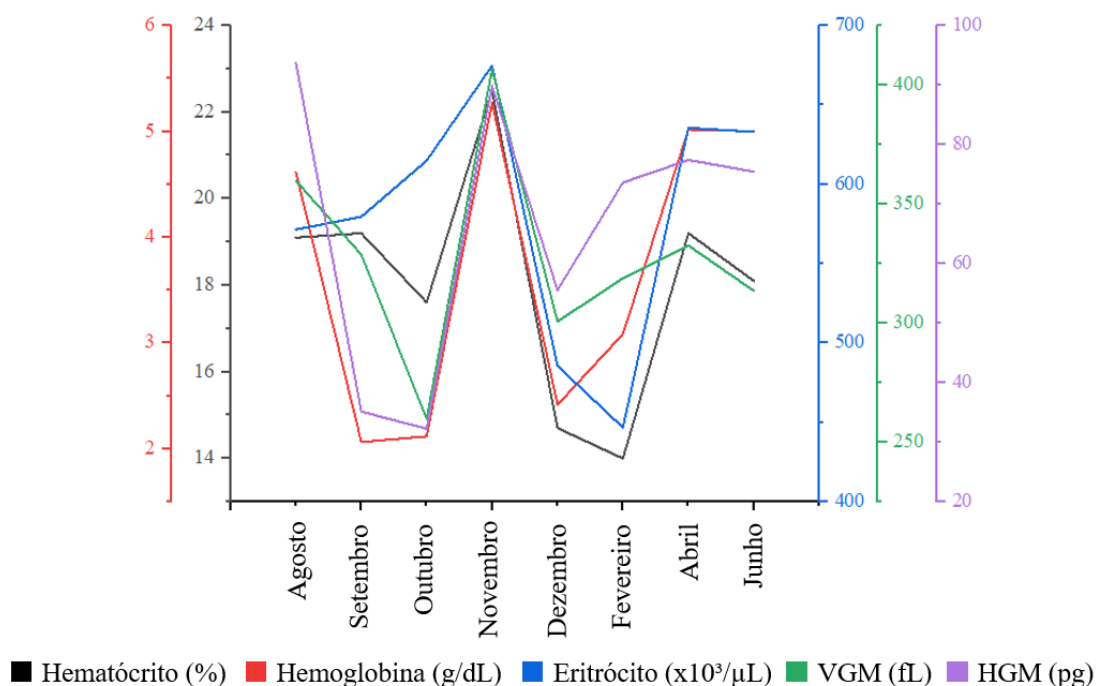
	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	Valor de P
Hemograma						
Hematócrito (%)	19,10 $\pm$ 6,60	19,20 $\pm$ 3,96	17,60 $\pm$ 4,76	22,50 $\pm$ 5,91	14,70 $\pm$ 5,69	0,011759*
Hemoglobina (g/dL)	4,61 $\pm$ 1,62	2,06 $\pm$ 0,39	2,11 $\pm$ 0,43	5,27 $\pm$ 1,78	2,41 $\pm$ 0,65	0,000000*
Eritrócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	571,50 $\pm$ 222,40	579,50 $\pm$ 130,20	614,80 $\pm$ 89,26	674,60 $\pm$ 192,70	484,50 $\pm$ 171,50	0,162277
Leucócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	523,10 $\pm$ 184,60	568,20 $\pm$ 173,40	513,50 $\pm$ 111,00	424,20 $\pm$ 149,80	375,90 $\pm$ 168,20	0,059265
VGM (fL)	359,80 $\pm$ 43,50	328,80 $\pm$ 22,55	259,90 $\pm$ 57,60	406,50 $\pm$ 85,58	300,70 $\pm$ 40,78	0,000003*
CHGM (g/dL)	23,89 $\pm$ 4,60	10,84 $\pm$ 1,66	12,43 $\pm$ 1,86	21,02 $\pm$ 2,17	19,47 $\pm$ 2,34	0,000000*
HGM (pg)	93,79 $\pm$ 11,64	35,15 $\pm$ 7,69	32,23 $\pm$ 6,82	89,84 $\pm$ 17,78	55,55 $\pm$ 11,74	0,000000*

Legenda: AGO (agosto), SET (setembro), OUT (outubro), NOV (novembro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho)

* $p \leq 0,05$

Foi possível observar que houve uma redução nos valores hematológicos como hematócrito, hemoglobina e os índices hematimétricos (Figura 11) entre os meses de coletas sequenciais, além de estarem menor quando comparado com dados de literatura (BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017). No entanto, durante o mês de novembro/2018, os valores de hemograma aumentaram, quando comparados com os demais meses, voltando a ter um decréscimo no mês de dezembro/2018.

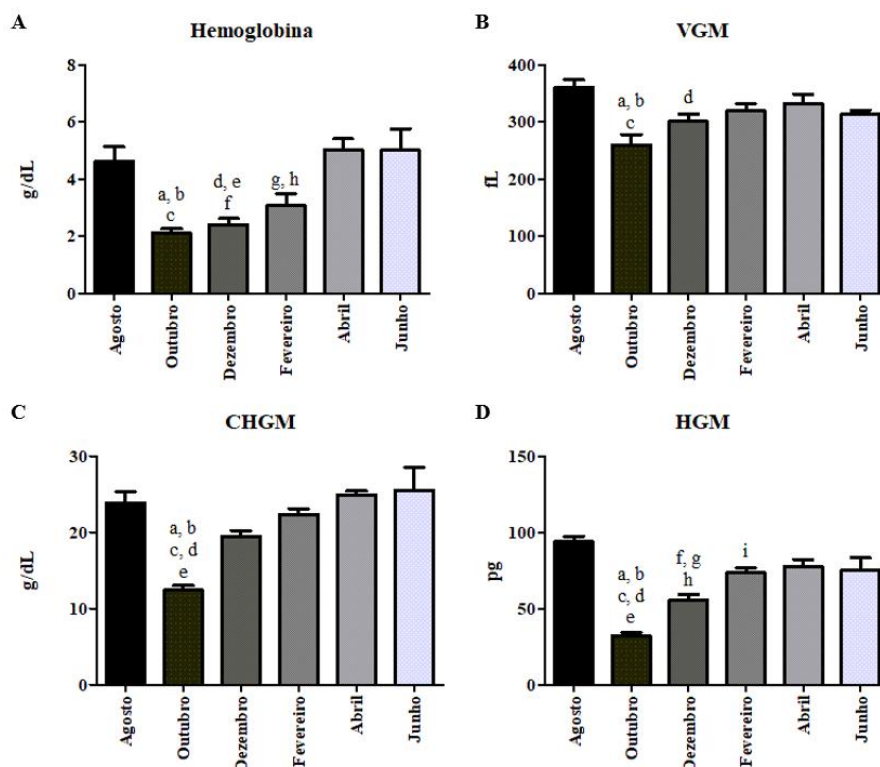
Figura 11. Gráfico do eritograma de “jabuti-piranga” (n=10) entre os meses de agosto/2018 a dezembro/2018.



O tempo de vida dos eritrócitos de quelônios varia entre 600 a 800 dias. No entanto, não há dados na literatura que relatem o tempo de recuperação dos mesmos para perda excessiva de sangue ou como resposta as coletas sequenciais (ATLAND; BRACE, 1962). O aumento dos valores hematológicos ocorrido no mês de novembro/2018, poderia indicar recuperação da perda de sangue dos “jabutis-piranga” que ocorre a partir do quarto mês de coleta seguido. Porém, apesar da presença de policromatófilos e eritrócitos binucleados, a quantidade não é suficiente para tal afirmação. No entanto, devido as reduções em hematócritos, hemoglobinas e índices hematimétricos, decidimos por realizar as coletas a cada 2 meses, tempo esse programado para que se evitasse que os animais entrassem em anemia ou que as coletas sequenciais pudessem interferir nos resultados finais.

Assim, os dados de agosto/2018 a junho/2019, respeitando o intervalo de um mês entre as coletas, estão representados Tabela 5. Nos meses de outubro/2018 e dezembro/2018 foram observados os menores valores da concentração de hemoglobina total circulante na corrente (out: $2,11 \pm 0,43\text{g/dL}$; dez: $2,41 \pm 0,65\text{g/dL}$). O mesmo foi notado com os índices hematimétricos VGM (out: $259,90 \pm 57,60\text{fL}$; dez: $300,70 \pm 40,78\text{fL}$), CHGM (out: $12,43 \pm 1,86\text{g/dL}$) e HGM (out: $32,23 \pm 6,82\text{pg}$; dez: $55,55 \pm 11,73\text{pg}$), parâmetros ilustrados na Figura 12.

Figura 12. **A.** Gráfico dos valores de hemoglobina de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p < 0,001$); **b** versus abril ($p < 0,001$); **c** versus junho ($p < 0,001$); **d** versus agosto ($p < 0,001$); **e** versus abril ($p < 0,001$); **f** versus junho ($p < 0,001$); **g** versus abril ($p < 0,05$); **h** versus junho ($p < 0,05$). **B.** Gráfico dos valores de VGM de “jabuti-piranga”, **a** versus agosto ($p < 0,001$); **b** versus fevereiro ($p < 0,05$); **c** versus abril ($p < 0,05$); **d** versus agosto ($p < 0,05$). **C.** Gráfico dos valores de CHGM de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p < 0,001$); **b** versus dezembro ($p < 0,05$); **c** versus fevereiro ($p < 0,001$); **d** versus abril ($p < 0,001$); **e** versus junho ($p < 0,001$). **D.** Gráfico dos valores de HGM de “jabuti-piranga”, onde **a** versus agosto ($p < 0,001$); **b** versus dezembro ($p < 0,05$); **c** versus fevereiro ($p < 0,001$); **d** versus abril ($p < 0,001$); **e** versus junho ($p < 0,001$); **f** versus agosto ($p < 0,001$); **g** versus abril ($p < 0,05$); **h** versus junho ($p < 0,05$); **i** versus agosto ($p < 0,05$).



Bury et al. (2019) mostraram que os índices hematológicos, como hematócrito, hemoglobina circulante, quantidade e volume das células da “cobra-de-água-de-colar” (*Natrix natrix*) variam de acordo com a temperatura, com redução de até 40%, 39%, 47% e 10%, respectivamente, nos períodos mais quentes. Além disso, também afirmaram que a redução dos parâmetros hematológicos nos períodos de maiores temperaturas também ocorre nos demais répteis. No entanto, Rodgers e Franklin (2017) mostraram que independente da variação da temperatura, os valores de hematócrito e hemoglobina circulante de “crocodilos-de-água-salgada” (*Crocodylus porosus*) não se alteraram.

Bergamini (2016), que também trabalhou com a descrição da diferença dos parâmetros hematológicos entre as estações do ano em “jabuti-piranga”, observou que nesses animais, durante os meses mais quentes (que correspondem correspondentes a primavera e verão) apresentaram maiores valores para os índices de hemoglobina e VGM.

Tabela 5. Dados do perfil hematológico de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Hemograma							
Hematócrito (%)	19,10 $\pm$ 6,60	17,60 $\pm$ 4,76	14,70 $\pm$ 5,69	14,00 $\pm$ 6,89	19,20 $\pm$ 4,36	18,10 $\pm$ 5,84	0,048823*
Hemoglobina (g/dL)	4,61 $\pm$ 1,62	2,11 $\pm$ 0,43	2,41 $\pm$ 0,65	3,08 $\pm$ 1,26	5,01 $\pm$ 1,21	5,00 $\pm$ 2,39	0,000000*
Eritrócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	571,50 $\pm$ 222,40	614,80 $\pm$ 89,26	485,50 $\pm$ 171,50	446,80 $\pm$ 176,70	635,50 $\pm$ 167,90	633,00 $\pm$ 211,80	0,038491*
Leucócitos Totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	523,10 $\pm$ 184,60	513,50 $\pm$ 111,00	375,90 $\pm$ 168,20	460,60 $\pm$ 181,40	572,90 $\pm$ 69,95	595,40 $\pm$ 188,30	0,016353*
Basófilo (%)	13,00 $\pm$ 5,67	8,70 $\pm$ 4,02	14,20 $\pm$ 8,23	18,25 $\pm$ 4,56	18,20 $\pm$ 7,51	16,20 $\pm$ 8,50	0,002080*
Eosinófilo (%)	8,90 $\pm$ 8,34	14,10 $\pm$ 9,32	17,40 $\pm$ 7,56	16,20 $\pm$ 3,32	17,94 $\pm$ 3,99	19,00 $\pm$ 7,25	0,004799*
Heterófilo (%)	35,10 $\pm$ 15,66	24,30 $\pm$ 10,40	26,70 $\pm$ 10,92	30,60 $\pm$ 3,74	26,66 $\pm$ 4,88	20,20 $\pm$ 5,99	0,004632*
Azurófilo (%)	5,70 $\pm$ 3,86	4,50 $\pm$ 2,27	4,30 $\pm$ 2,58	7,50 $\pm$ 7,10	0,92 $\pm$ 1,34	4,40 $\pm$ 2,24	0,002798*
Linfócito (%)	19,50 $\pm$ 9,07	27,10 $\pm$ 7,54	17,50 $\pm$ 7,07	17,00 $\pm$ 4,89	20,00 $\pm$ 5,81	24,00 $\pm$ 5,73	0,003723*
Monócito (%)	18,40 $\pm$ 5,48	16,80 $\pm$ 5,95	20,90 $\pm$ 6,40	17,25 $\pm$ 6,18	15,46 $\pm$ 6,07	18,20 $\pm$ 4,15	0,359335
VGM (fL)	359,80 $\pm$ 43,50	259,90 $\pm$ 57,60	300,70 $\pm$ 40,78	318,80 $\pm$ 40,04	332,60 $\pm$ 48,97	313,60 $\pm$ 20,52	0,000149*
CHGM (g/dL)	23,89 $\pm$ 4,60	12,43 $\pm$ 1,86	19,47 $\pm$ 2,34	22,30 $\pm$ 2,51	24,93 $\pm$ 1,61	25,48 $\pm$ 9,58	0,000001*
HGM (pg)	93,79 $\pm$ 11,64	32,23 $\pm$ 6,82	55,55 $\pm$ 11,74	73,61 $\pm$ 9,75	77,41 $\pm$ 14,97	75,47 $\pm$ 25,36	0,000000*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

* $p \leq 0,05$

Os meses de outubro e dezembro apresentaram, respectivamente, média de 25°C e 27°C de temperatura, 79% e 63% de umidade relativa e 12h 43 min 48seg e 13h 20min 24seg de luminosidade, respectivamente. Foram períodos considerados mais quentes seco e com bastante intensidade luminosa, quando comparados aos demais meses de coleta. A máxima da temperatura e luminosidade ocorreu no mês de dezembro, coincide com o período em que os animais apresentaram os menores valores de hemoglobina ($2,41 \pm 0,65\text{g/dL}$) e, consequentemente, de CHGM ($19,47 \pm 2,34\text{g/dL}$) e HGM ($55,55 \pm 11,74\text{pg}$).

A viscosidade do sangue dos organismos está relacionada diretamente com o volume plasmático e a quantidade de células circulantes. Quanto mais eritrócitos presentes no sangue, maior será a viscosidade do mesmo, influenciando de forma negativa a circulação e distribuição dos gases no animal (HILL; WYSE; ANDERSON, 2012). Bury et al. (2019) descrevem que nos períodos mais quentes do ano, há redução da quantidade de eritrócito nos répteis, pois são temperaturas que demandam maior gasto energético. Com a diminuição das células vermelhas no sangue, há redução na viscosidade do mesmo, atendendo as demandas por todo o corpo do animal.

Nos jabutis do nosso estudo, não foi observada nenhuma variação por microscopia e índices dos eritrócitos, apesar de terem apresentado menor valor numérico na quantidade no mês de dezembro ($485,50 \pm 171,50 \times 10^3/\mu\text{L}$). No entanto, quando se compara o volume celular das células vermelhas (VGM) há redução nos meses considerados quentes (out: $259,90 \pm 57,60\text{fL}$; dez: $300,70 \pm 40,78\text{fL}$), podendo essa alteração de volume influenciar de forma direta na viscosidade do sangue, uma vez que a diminuição do VGM irá aumentar a porcentagem de plasma sanguíneo, aumentando assim, a viscosidade do sangue, fazendo com que os eritrócitos presentes atendam as demandas do organismo.

Por fim, quando analisados os valores leucocitários, foi possível perceber que variaram pouco durante os meses de coleta, variação essa considerada normal (GOULART, 2004; STACY; ALLEMAN; SAYLER, 2011; ZHANG; GU; LI, 2011; MARTINS et al., 2016). O que chama atenção é o elevado número de monócitos presentes no sangue periférico desses animais, que naturalmente deveriam estar entre 0-10% (GOULART, 2004). Observamos que nesse estudo, os jabutis apresentaram média de 17,83% de monócitos, indicando possível inflamação ou infecção por microrganismos (STACY; ALLEMAN; SAYLER, 2011), mesmo que aparentemente saudáveis.

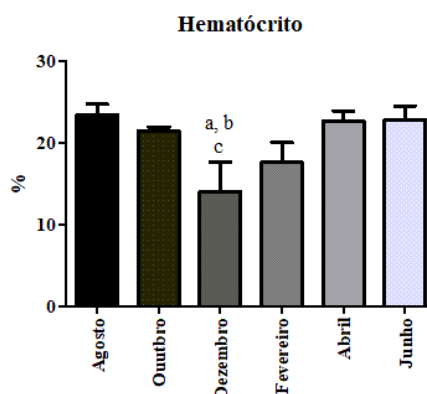
Os dados hematológicos durante os meses de coletas, para machos e fêmeas, separadamente, estão representados nas tabelas 6 e 7, respectivamente.

Nos meses considerados quentes, como dezembro e fevereiro, foi possível observar redução nos valores de hematócrito (macho: dez: $14,00 \pm 8,10\%$; fev: $17,60 \pm 5,30\%$; fêmea: dez: $14,20 \pm 4,10\%$; fev: $10,50 \pm 7,80\%$) e do VGM (macho: dez: $291,34\text{fL}$; fêmea: dez: $295,33 \pm 58,57\text{fL}$), caracterizando aumento na viscosidade sanguínea, pois a redução do volume celular consequentemente aumenta a proporção de plasma no sangue, correspondendo a demanda do organismo.

Também foi possível observar, em ambos os sexos, que os leucócitos permaneceram constantes. No entanto, os valores de monócitos, cuja normalidade, de acordo Goulart (2004), deve ser entre 0-10%, estavam acima dessa porcentagem, para machos ($18,30 \pm 1,11\%$) e fêmeas ($17,37 \pm 3,05\%$), podendo indicar, em ambos os casos, infecção ou inflamação por microrganismos parasitas.

O que se destaca nesse momento de comparação dos parâmetros hematológicos entre os sexos é variação nos valores de hematócrito entre os meses, com destaque para o mês de dezembro em que os machos ($14,00 \pm 8,10\%$) apresentaram os menores valores quando comparados aos demais meses de coleta (Figura 13).

Figura 13. Gráfico representativos dos valores de hematócrito para machos de “jabuti-piranga”, em que **a** versus agosto ($p < 0,05$); **b** versus abril ($p < 0,05$); **c** versus junho ($p < 0,05$).



Schramm; Casares; Lance (1999) descrevem o ciclo reprodutivo da “tartaruga-gigante de Galápagos” (*Chelonoidis nigra*), pertencente ao mesmo gênero que os “jabuti-piranga”. Relatam que o pico de testosterona desses ocorre nos meses da primavera no hemisfério norte (que corresponde aos meses de março a junho), sendo sua concentração no plasma sanguíneo diminuída nos meses do verão (entre os meses de junho a setembro), que ocorre o processo da espermatogênese, preparando o animal para o ato reprodutivo.

O aumento da concentração de testosterona circulante nos répteis influencia diretamente a fisiologia desses animais, elevando, por exemplo, os valores de hematócrito (SINERVO; MILES, 2011). Em machos, como consequência da ação desse hormônio esteroide, há aumento da disputa por territórios, bem como melhores oportunidades de vida, como a sobrevivência da espécie e sucesso reprodutivo (SINERVO; MILES, 2011).

Considerando os valores observados, possivelmente os “jabuti-piranga” tenham o ciclo reprodutivo muito semelhante ao descrito por SCHRAMM; CASARES; LANCE (1999) para *C. nigra*, pois durante o período da espermatogênese, em que a síntese desse hormônio é reduzida, há como consequência a redução dos valores de hematócrito, como observado em dezembro/2018. No entanto, nesse mesmo período houve redução dos números de eritrócitos circulantes no sangue dos jabutis machos, retomando a teoria de que nos meses mais quentes, há redução da viscosidade sanguínea para melhorar as demandas por eritrócitos por todo o organismo.

4.4. Comparação do perfil bioquímico metabólico para machos e fêmeas, entre os meses de coleta

Os dados de perfil bioquímico metabólico estão representados na Tabela 8.

Tabela 6. Dados do perfil bioquímico metabólico de “jabuti-piranga” (n = 10) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Bioquímica Metabólica							
Glicose (mg/dL)	45,39 $\pm$ 19,45	91,31 $\pm$ 58,05	57,35 $\pm$ 10,47	58,99 $\pm$ 15,97	55,37 $\pm$ 7,65	63,47 $\pm$ 17,94	0,002174*
Colesterol (mg/dL)	112,50 $\pm$ 33,04	152,40 $\pm$ 66,82	220,60 $\pm$ 112,20	110,40 $\pm$ 67,73	163,90 $\pm$ 70,07	230,70 $\pm$ 164,30	0,000809*
Triglicérides (mg/dL)	146,20 $\pm$ 55,63	237,80 $\pm$ 223,10	334,50 $\pm$ 247,70	112,50 $\pm$ 126,90	168,40 $\pm$ 62,67	194,80 $\pm$ 130,20	0,020115*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

* $p \leq 0,05$

Quando comparados entre os meses de coleta, os índices de glicose foram maiores no mês de outubro (91,31 $\pm$ 58,05mg/dL) enquanto que os de colesterol e triglicérides foram maiores nos meses de dezembro (col: 220,60 $\pm$ 112,20 mg/dL; trig: 334,50 $\pm$ 247,70 mg/dL), valores representados na Figura 14.

Tabela 7. Dados do perfil hematológico de machos de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Hemograma							
Hematócrito (%)	23,40 $\pm$ 2,80	19,60 $\pm$ 4,90	14,00 $\pm$ 8,10	17,60 $\pm$ 5,30	22,60 $\pm$ 2,90	22,80 $\pm$ 3,70	0,015429*
Hemoglobina (g/dL)	5,67 $\pm$ 0,69	2,22 $\pm$ 0,67	2,83 $\pm$ 1,53	3,67 $\pm$ 1,39	5,67 $\pm$ 0,83	6,06 $\pm$ 1,92	0,000004*
Eritrócitos Totais (x10 ³ /μL)	672,00 $\pm$ 125,00	649,00 $\pm$ 181,00	493,00 $\pm$ 238,00	551,00 $\pm$ 70,00	736,00 $\pm$ 137,00	750,00 $\pm$ 76,00	0,027992*
Leucócitos Totais (x10 ³ /μL)	594,40 $\pm$ 125,60	481,00 $\pm$ 84,00	275,20 $\pm$ 75,50	527,40 $\pm$ 119,30	634,60 $\pm$ 86,70	665,00 $\pm$ 164,10	0,000053*
Basófilo (%)	13,80 $\pm$ 5,93	8,00 $\pm$ 1,22	12,20 $\pm$ 5,67	18,00 $\pm$ 4,47	14,40 $\pm$ 7,26	16,80 $\pm$ 10,45	0,075444*
Eosinófilo (%)	7,00 $\pm$ 4,79	12,60 $\pm$ 6,84	17,20 $\pm$ 5,02	16,00 $\pm$ 4,00	19,20 $\pm$ 5,21	20,80 $\pm$ 6,41	0,012194*
Heterófilo (%)	32,00 $\pm$ 19,14	22,80 $\pm$ 9,12	29,20 $\pm$ 7,69	30,20 $\pm$ 4,49	26,00 $\pm$ 4,47	23,60 $\pm$ 4,77	0,355810
Azurófilo (%)	5,60 $\pm$ 2,79	4,00 $\pm$ 2,34	4,20 $\pm$ 1,48	4,00 $\pm$ 0,00	1,20 $\pm$ 1,78	3,60 $\pm$ 1,67	1,000000
Linfócito (%)	22,80 $\pm$ 11,50	25,00 $\pm$ 8,91	17,60 $\pm$ 3,28	17,00 $\pm$ 6,55	22,00 $\pm$ 6,32	21,60 $\pm$ 3,84	0,418158
Monócito (%)	19,00 $\pm$ 7,48	18,40 $\pm$ 6,10	20,00 $\pm$ 4,89	18,00 $\pm$ 6,63	17,60 $\pm$ 8,29	16,80 $\pm$ 5,76	0,966202
VGM (fL)	356,30 $\pm$ 72,19	326,84 $\pm$ 144,02	291,34 $\pm$ 91,71	322,67 $\pm$ 94,39	312,09 $\pm$ 43,17	304,85 $\pm$ 44,39	0,291811
CHGM (g/dL)	24,48 $\pm$ 4,00	11,25 $\pm$ 1,36	21,32 $\pm$ 4,42	20,36 $\pm$ 4,74	25,29 $\pm$ 3,61	26,27 $\pm$ 6,00	0,000001*
HGM (pg)	85,93 $\pm$ 12,84	38,23 $\pm$ 21,62	59,50 $\pm$ 15,47	68,24 $\pm$ 26,96	78,16 $\pm$ 10,61	80,08 $\pm$ 22,31	0,000015*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

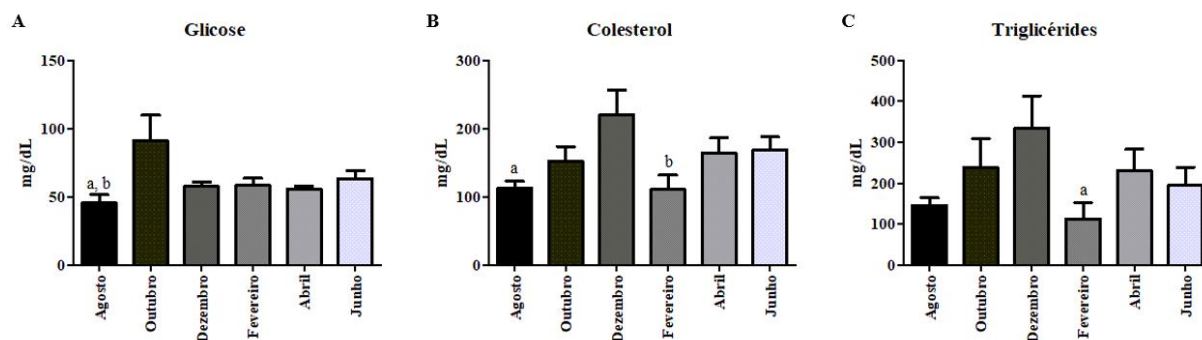
* $p \leq 0,05$

Tabela 8. Dados do perfil hematológico de fêmeas de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Hemograma							
Hematócrito (%)	14,8 $\pm$ 6,6	13,8 $\pm$ 20,5	14,2 $\pm$ 4,1	10,5 $\pm$ 7,8	17 $\pm$ 4,7	14,8 $\pm$ 4,7	0,405843
Hemoglobina (g/dL)	3,558 $\pm$ 1,635	1,834 $\pm$ 0,317	2,484 $\pm$ 0,625	2,419 $\pm$ 1,547	4,355 $\pm$ 1,431	3,936 $\pm$ 2,526	0,043196*
Eritrócitos Totais (x10 ³ /μL)	417 $\pm$ 266	575 $\pm$ 118	478 $\pm$ 96	342 $\pm$ 225	535 $\pm$ 160	516 $\pm$ 246	0,493535
Leucócitos Totais (x10 ³ /μL)	451,8 $\pm$ 219,5	546 $\pm$ 134,2	476,6 $\pm$ 180,5	430,7 $\pm$ 300,6	539,7 $\pm$ 96,1	525,8 $\pm$ 201,8	0,792166
Basófilo (%)	12,20 $\pm$ 5,97	9,40 $\pm$ 5,81	16,20 $\pm$ 10,50	18,50 $\pm$ 5,17	22,00 $\pm$ 6,16	15,60 $\pm$ 7,26	0,031057*
Eosinófilo (%)	10,80 $\pm$ 11,17	15,60 $\pm$ 11,97	17,60 $\pm$ 10,16	16,40 $\pm$ 2,96	16,68 $\pm$ 2,16	17,20 $\pm$ 8,31	0,575208
Heterófilo (%)	38,20 $\pm$ 12,70	25,80 $\pm$ 12,44	24,20 $\pm$ 13,92	31,00 $\pm$ 3,31	27,32 $\pm$ 5,71	16,80 $\pm$ 5,40	0,022623*
Azurófilo (%)	5,80 $\pm$ 5,07	5,00 $\pm$ 2,34	4,40 $\pm$ 3,57	11,00 $\pm$ 9,10	0,64 $\pm$ 0,81	5,20 $\pm$ 2,68	0,020456*
Linfócito (%)	16,20 $\pm$ 5,07	29,20 $\pm$ 6,14	17,40 $\pm$ 10,09	17,00 $\pm$ 3,31	18,00 $\pm$ 5,09	26,40 $\pm$ 6,69	0,001648*
Monócito (%)	17,80 $\pm$ 3,27	15,20 $\pm$ 6,01	21,80 $\pm$ 8,13	16,50 $\pm$ 6,38	13,32 $\pm$ 1,63	19,60 $\pm$ 0,89	0,195296
VGM (fL)	350,10 $\pm$ 109,00	238,03 $\pm$ 28,70	295,33 $\pm$ 58,57	302,46 $\pm$ 59,53	329,66 $\pm$ 93,84	328,60 $\pm$ 126,26	0,000394*
CHGM (g/dL)	24,50 $\pm$ 6,47	13,61 $\pm$ 1,58	17,78 $\pm$ 2,12	25,67 $\pm$ 9,82	25,50 $\pm$ 4,87	24,69 $\pm$ 13,01	0,048599*
HGM (pg)	86,46 $\pm$ 33,57	32,17 $\pm$ 2,97	51,59 $\pm$ 5,61	75,33 $\pm$ 21,75	87,21 $\pm$ 40,42	70,84 $\pm$ 29,93	0,000224*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

Figura 14. A. Gráfico dos valores de glicose de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p<0,001$); **b** versus junho ($p<0,05$). B. Gráfico dos valores de colesterol de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p<0,05$); **b** versus dezembro ($p<0,05$). C. Gráfico dos valores de triglicérides de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p<0,05$).



Pereira (2015) descreve os valores médios de glicose, colesterol e triglicérides, respectivamente de $67,00 \pm 18,44\text{mg/dL}$, $126,80 \pm 76,40\text{mg/dL}$ e $91,31 \pm 73,52\text{mg/dL}$, para machos e fêmeas de “jabuti-piranga” em cativeiro. Bergamini (2016) também descreve sobre perfil bioquímico de *C. carbonarius*, mantidos em cativeiro, onde foi encontrado valores médios de glicose, colesterol e triglicérides, respectivamente de $72,16 \pm 22,17\text{mg/dL}$, $221,32 \pm 48,31\text{mg/dL}$ e $367,76 \pm 8,15\text{mg/dL}$.

Não há descrito na literatura valores de normalidade para os parâmetros bioquímicos metabólicos como a glicose, colesterol e triglicérides. Além disso, em nosso estudo, a dosagem dos marcadores bioquímicos não permitiu inferir se houve, ou não, reserva energética. No entanto, podemos afirmar que nesses meses houve maior mobilização de cada um desses metabólitos, utilizados durante o processo reprodutivo dos “jabuti-piranga”, uma vez que apresentaram maiores valores nos meses que corresponde à primavera na América do Sul, período esse em qual ocorre a síntese dos hormônios esteroides, utilizados na reprodução (HO et al., 1982; SINERVO; MILES, 2011).

Durante esses meses, os autores já relataram maior circulação de metabólitos energéticos para uso na reprodução, seja ela produção hormonal (POIAN; CARVALHO-ALVES, 2005; SINERVO; MILES, 2011), corte e coito (MOLINA, 1992; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017), postura e nidificação (MOLINA, 1992; BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017).

No jabutis de nosso estudo, o aumento da glicose está relacionado diretamente com o busca por alimentos e preparo para o período reprodutivo dos mesmos; enquanto que elevados níveis de colesterol e triglicérides corresponde com a síntese dos hormônios esteroides,

utilizados durante a reprodução, enquanto que sua queda nos meses seguintes pode estar relacionada com o fato de que, assim como as fêmeas de tartarugas marinhas durante o período reprodutivo deixam de se alimentar para realizar atividades de nidificação e postura dos ovos, as fêmeas “jabuti-piranga” também podem deixar de se alimentar para realização das atividades de nidificação e postura dos ovos (MOLINA, 1992; HAMANN, et al., 2002; HAMANN; LIMPUS; WHITIER, 2003; SINERVO; MILES, 2011)

Os valores do perfil bioquímico metabólico para machos e fêmeas estão registrados nas tabelas 9 e 10, respectivamente.

Tabela 9. Dados do perfil bioquímico metabólico para machos de “jabuti-piranga” (n=5) entre os meses de agosto/2018 a junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Bioquímica Metabólica							
Glicose (mg/dL)	55,00 $\pm$ 19,75	127,67 $\pm$ 64,87	65,03 $\pm$ 24,17	66,20 $\pm$ 14,40	58,65 $\pm$ 8,80	91,51 $\pm$ 43,43	0,013623*
Colesterol (mg/dL)	125,67 $\pm$ 15,29	93,45 $\pm$ 30,87	140,56 $\pm$ 62,03	84,67 $\pm$ 14,65	101,40 $\pm$ 25,84	162,75 $\pm$ 15,25	0,013781*
Triglicérides (mg/dL)	102,94 $\pm$ 45,82	57,40 $\pm$ 44,43	134,42 $\pm$ 123,79	31,87 $\pm$ 28,81	79,29 $\pm$ 40,41	184,00 $\pm$ 122,85	0,022767*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

* $p \leq 0,05$

Tabela 10. Dados do perfil bioquímico metabólico para fêmeas de “jabuti-piranga” (n = 5) entre os meses de agosto/2018 até junho/2019, expressos em média $\pm$ desvio padrão.

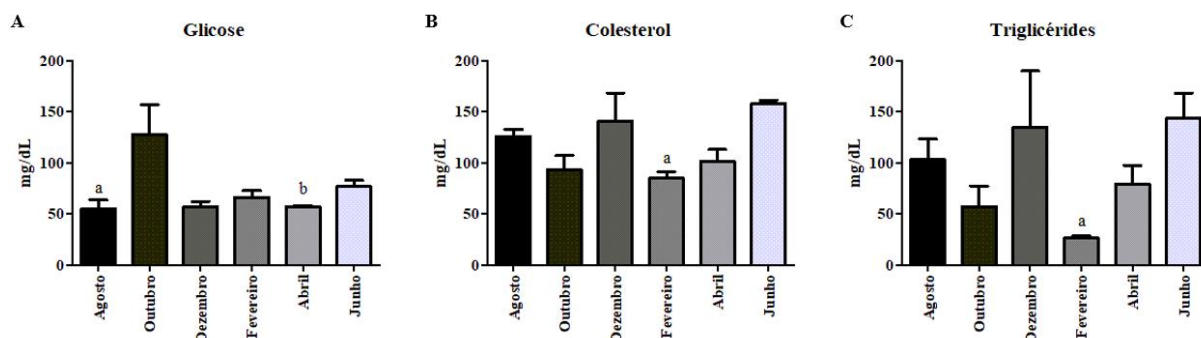
	AGO	OUT	DEZ	FEV	ABR	JUN	Valor de P
Bioquímica Metabólica							
Glicose (mg/dL)	35,78 $\pm$ 15,16	54,94 $\pm$ 8,15	52,41 $\pm$ 18,14	50,77 $\pm$ 17,04	53,42 $\pm$ 12,66	50,40 $\pm$ 9,74	0,122594
Colesterol (mg/dL)	138,90 $\pm$ 116,27	190,63 $\pm$ 60,27	300,67 $\pm$ 91,94	136,05 $\pm$ 106,18	205,28 $\pm$ 72,72	178,88 $\pm$ 92,23	0,000230*
Triglicérides (mg/dL)	193,12 $\pm$ 110,47	553,16 $\pm$ 406,52	674,77 $\pm$ 412,17	198,73 $\pm$ 153,33	405,88 $\pm$ 276,95	245,90 $\pm$ 182,98	0,018699*

Legenda: AGO (agosto), OUT (outubro), DEZ (dezembro), FEV (fevereiro), ABR (abril) e JUN (junho).

* $p \leq 0,05$

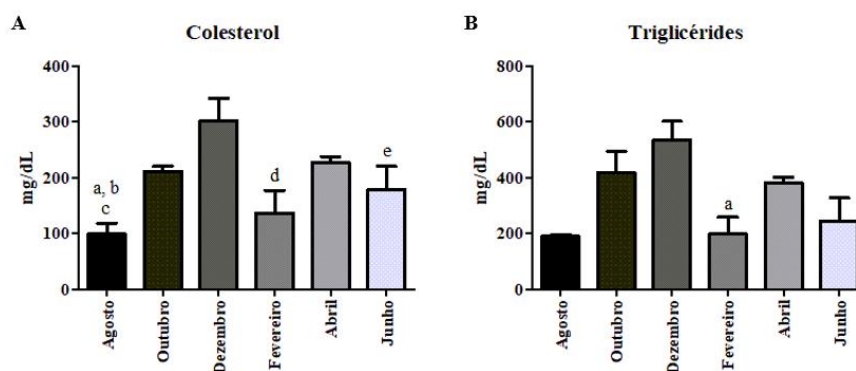
Para análise bioquímica entre os jabutis machos, foram encontrados valores elevados de glicose no mês de outubro (127,67mg/dL $\pm$ 64,87), enquanto colesterol e triglicérides apresentaram valores elevados nos meses de dezembro (col:140,56 $\pm$ 62,03mg/dL; trig: 134,42 $\pm$ 123,79mg/dL) e junho (col: 162,75 $\pm$ 15,25mg/dL; trig: 184,00 $\pm$ 122,85mg/dL). Os resultados desses parâmetros estão ilustrados na Figura 15.

Figura 15. A. Gráfico dos valores de glicose para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p < 0,05$); **b** versus outubro ($p < 0,001$). B. Gráfico dos valores de colesterol para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus junho ($p < 0,05$). C. Gráfico dos valores de triglicérides para machos de “jabuti-piranga”, onde **a** versus junho ($p < 0,05$).



Quando analisadas para marcadores metabólicos (glicose, colesterol e triglicérides), as fêmeas apresentaram maiores valores de colesterol no mês de dezembro ($300,67 \pm 91,94\text{mg/dL}$); enquanto que para os triglicérides foram encontrados em maiores concentrações no meses de outubro ($553,16 \pm 406,52\text{mg/dL}$), dezembro ($674,77 \pm 412,17\text{mg/dL}$) e abril ($405,88 \pm 276,95$), sendo os valores representados pela Figura 16.

Figura 16. A. Gráfico dos valores de colesterol para fêmeas de “jabuti-piranga”, onde **a** versus outubro ($p < 0,05$); **b** versus dezembro ($p < 0,001$); **c** versus abril ($p < 0,05$); **d** versus dezembro ($p < 0,05$); **e** versus dezembro ($p < 0,05$). B. Gráfico dos valores de triglicérides para fêmeas de “jabuti-piranga”, onde **a** versus dezembro ($p < 0,05$).



A reprodução das “tartarugas-gigantes-de-Galápagos” pode ser utilizada como um modelo típico para os animais de regiões tropicais (BLANVILLE; OWENS; KUCHLING, 2011). Esses animais apresentam o ciclo reprodutivo denominado *prenuptial*, onde ocorre o desenvolvimento sincronizado das gônadas, até mesmo nos meses mais frios, tendo seu auge para a produção dos gametas na primavera (LANCE, 1998). Por essas características, são considerados animais cuja reprodução é dependente da sazonalidade (REITER; TAN; FUENTES-BROTO, 2010). Nesse ciclo, a vitelogênese ocorre geralmente no mês de julho,

coincidindo com picos de estradiol. Além disso, os meses de março e outubro, são os períodos em que a progesterona está presente em elevados índices na corrente sanguínea das fêmeas de quelônios terrestres. Os hormônios esteroides, como o estradiol e progesterona são responsáveis pela ovulação e construção dos ninhos, respectivamente (BLANVILLE; OWENS; KUCHLING, 2011).

Nas fêmeas de “jabuti-piranga” desse estudo, no mês de outubro, foi encontrado valor elevado de colesterol quando comparado aos outros meses, podendo indicar o uso para a produção de progesterona e a modulação desse lipídeo como fonte de energia, utilizada nesse período pelas fêmeas durante a nidificação, conforme descrito anteriormente (BLANVILLE; OWENS; KUCHLING, 2011; BRANSON; ATKINSON; RAMOS 2016).

No mês de abril observamos o aumento do colesterol, podendo esse ser o indício da produção de estradiol, utilizado durante o processo de vitelogênese. E, por fim, ambos os lipídeos apresentaram elevados índices no mês de dezembro, sugerindo possível requisição dos mesmos para a síntese de progesterona e estradiol, utilizados nos processos de ovulação (em março) e vitelogênese (em julho), respectivamente. Os resultados sugerem que possivelmente as fêmeas de “jabuti-piranga” avaliadas nesse estudo possuem o ciclo reprodutivo semelhante aos representantes do mesmo gênero (*Chelonoidis*) como anteriormente descrito (BLANVILLE; OWENS; KUCHLING, 2011; BRANSON; ATKINSON; RAMOS 2016).

A testosterona é um esteroide, sintetizado a partir de ácidos graxos (SINERVO; MILES, 2011). Os machos de “tartaruga-gigante-de-Galápagos” (*C. nigra*) apresentam um pico de testosterona associado com a espermatogênese. Geralmente esse pico ocorre entre os meses de junho e novembro, que representam o período da primavera (SCHRAMM et al., 1999). Os machos aqui avaliados apresentaram elevados índices de colesterol e triglicérides nos meses de dezembro e junho, período em que esses lipídeos são requisitados para a produção da testosterona. Uma hipótese para o uso dos triglicérides na produção de testosterona está no relato desse componente para a produção de feromônios, das glândulas de queixo, presentes em quelônios da família Testudinidae, em que a sua liberação resulta na competição entre os machos, seja ela pelo território ou pela fêmea (SINERVO; MILES, 2011).

Junto aos compostos lipídicos, foi observado o aumento na concentração de glicose no plasma sanguíneo dos machos no mês de outubro, podendo essa, ser resultado da melhor alimentação desses animais no período de final de outono e início da primavera, se preparando para a entrada no período reprodutivo dos mesmos, uma vez que a diferença alimentar entre machos e fêmeas de “jabuti-piranga”, em que os primeiros possuem um consumo alimentar muito maior que as segundas, já relatado por Álvares et al. (2008).

Em ambos os sexos, a melatonina é o hormônio responsável por regular toda a fisiologia desses organismos, preparando-os para a reprodução (REITER et al., 2009). Esse hormônio, também presente em microrganismos e plantas, é produzido na glândula pineal, presente em diversos vertebrados, incluindo os quelônios, foi primordialmente descrito como um antioxidante (FILADELFI; CASTRUCCI, 1996; TOSINI, 1997; ZHAO et al., 2019). Há evidências de que, dentre outras funções, a melatonina atua na regulação fisiológica, de acordo com o fotoperíodo de que os animais estão submetidos (REITER et al., 2009). Estudos com “tartaruga-de-três-dedos” (*Terrapene carolina triunguis*) mostraram influência direta da temperatura e da luminosidade na síntese da melatonina, em que períodos de dia curto (8 horas de luminosidade), o pico de melatonina ocorre a partir das 11 horas de escuridão; enquanto que nos períodos de dia longo (16 horas de luminosidade), a partir de 4 horas já é evidenciado o pico da melatonina na corrente sanguínea (VIVIEN-ROELS; PÉVET; CLAUSTRA, 1988).

Durante os meses de coleta, foi averiguado o fotoperíodo correspondente de cada mês, e foi possível observar uma variação relevante, com máximo de horas no mês de dezembro (13h 43min 48seg) e mínimo no mês de junho (10h 53min 24seg), que correspondem aos meses mais quente e frio, respectivamente. Esses períodos coincidem com o momento de redução na síntese de hormônios esteroides, no mês de dezembro, e com o aumento de ácidos graxos em junho, época em que os animais tendem a diminuir seu metabolismo, podendo a melatonina atuar na regulação dos processos reprodutivos e metabólicos dos jabutis.

Assim, considerando a questão principal desse estudo, percebemos que machos e fêmeas de “jabuti-piraga” respondem de formas distintas quanto as variações ambientais, onde machos apresentam maiores valores de hematócrito nos meses mais quentes; enquanto que as fêmeas apresentam concentrações de colesterol e triglicérides maior que dos machos no período reprodutivo, sendo esses, utilizados para a vitelogênese, além da produção dos hormônios esteroides.

O comportamento reprodutivo de “jabuti-piranga” é muito semelhante ao das “tartarugas-gigantes-de-Galápagos”. A semelhança dos índices hematológicos e bioquímicos reforça a hipótese evolutiva de que os jabutis de Galápagos teriam originados a partir da emigração de jabutis amazônicos e que apesar das diferentes características morfológicas adquiridas no decorrer do processo evolutivo, esses animais apresentam o mesmo comportamento fisiológico e reprodutivo, como observado em nosso estudo.

Também foi possível perceber a variação da temperatura, umidade relativa e fotoperíodo caracterizam sazonalidade para os meses do ano na região de Ilha Solteira – SP, e atuam diretamente no perfil hematológico, diminuindo hematócrito, concentração de hemoglobina e

VGM nos períodos mais quentes dos meses de coleta; e nos parâmetros bioquímicos metabólicos, aumentando a concentração de glicose, colesterol e triglicérides nos períodos mais quentes e mais luminosos nos meses mais quentes, sofrendo influência direta da síntese de melatonina.

5. Conclusão

- I. A variação sazonal interfere nos parâmetros hematológicos como a hemoglobina, CHGM e HGM, apresentando menores valores nos períodos em que a temperatura é menor que a média.
- II. A variação sazonal também interfere nos parâmetros bioquímicos, sendo que a glicose, colesterol e triglicérides são mais requisitados no período da primavera (entre final de setembro e início de dezembro).
- III. O perfil hematológico, mais especificamente o hematócrito, a dosagem de hemoglobina e eritrócitos totais, diferem entre os indivíduos machos e fêmeas, sendo encontrados maiores valores para os primeiros, mesmo que apresentem tamanho corpóreo menor quando comparado as fêmeas.
- IV. O perfil bioquímico também difere entre os sexos, sendo que a glicose é encontrada em maior concentração nos machos, enquanto que colesterol e triglicérides são encontrados em maiores concentrações nas fêmeas.
- V. As coletas mensais de amostra sanguínea de jabutis devem ser evitadas, sendo essas realizadas no mínimo com intervalo de um mês entre coletas, para que a perda excessiva de sangue não altere os resultados futuramente obtidos durante as análises hematológicas e bioquímicas.

Referências

- ALLEMAN, A.R.; JACOBSON, E.R.; RASKIN, R.E. **Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*)**. American Journal of Veterinary Research, v. 53(9), 1645-1651p. 1992.
- ALVARÉS, S.R.; ARAUJO, S.D.M.; FARIA, A.P.; NUNES, B.C.; GUIMARÃES, I.F.; PRIANTI JÚNIOR, A.C.G. **Comportamento alimentar de *Geochelone carbonaria* (SPIX, 1824) e *Geochelone denticulata* (LINNAEUS, 1766) em cativeiro**. Publicação dos anais no XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Universidade do Vale do Paraíba, 1-4p. 2008.
- ANDREANI, G.; CARPENÈ, E.; CANNAVACCIUOLO, A.; GIROLAMO, N. DI; FERLIZZA, E.; ISANI, G. **Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni* spp.)**. Veterinay Clinical Pathology, v. 43(4), 573 – 583p. 2014.
- ARIKAN, H.; ÇIÇEK, K. **Haematology of amphibians and reptiles: a review**. North-Western Journal of Zoology, v. 10(1), 190-209p. 2014.
- ARTACHO, P.; SOTO-GAMBOA, M.; VERDUGO, C.; NESPOLO, R.F. **Using haematological parameters to infer the health and nutritional status of an endangered black-necked swan population**. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, v. 147, 1060-1066p. 2007.
- ATLAND, P.D.; BRACE, K.C. **Red cell life span in the turtle and toad**. Am. J. Physiol., v. 203(6), 1188-1190p. 1962.
- BARROS, M.S.; RESENDE, L.C.; SILVA, A.G.; FERREIRA JÚNIOR, P.D. **Morphological variations and sexual dimorphism in *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) and *Chelonoidis denticulata* (Linnaeus, 1766) (Testudinidae)**. Braz. J. Biol., v. 72(1), 153-161p. 2012.
- BERGAMINI, B.C.S. **Variação sazonal dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do “jabuti”-piranga (*Chelonoidis carbonaria*)**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 156f. 2016.
- BIELLI, M.; NARDINI, G.; GIRALOMO, N. DI; SAVARINO, P. **Hematological values for adult eastern Hermann's tortoise (*Testudo hermanni boettgeri*) in semi-natural conditions**. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 27(1), 68-73p. 2015.
- BLANVILLIAN, G.; OWENS, D.W.; KUCHLING, G. **Hormones and Reproductive Cycles in Turtles**. In: Hormones and Reproduction of Vertebrates: Volume 3: Reptile. Elsevier Inc. 1ºed. 413p. 2011.
- BONINI-DOMINGOS, C.R.; OLIVEIRA, C. ***Phrynops geoffroanus*: pesquisa no Brasil**. São José do Rio Preto, SP: HN. 144p. 2017.
- BRANSON, M.A.; ATKINSON, S.; RAMOS, M.F. **Hormonal Profiles of Captive Galapagos Tortoises (*Chelonoidis nigra*)**. Zoo Biology, v. 35, 237-245p. 2016.

BURY, S.; BURY, A.; SADOWSKA, E.T.; CHICON, M.; BAUCHINGER, U. **More than just numbers – contrasting response of snake erythrocytes to thermal acclimation.** The Science of Nature, v. 106(24), 1-6p. 2019.

CAMPBELL, T.W. **Clinical Pathology of Reptiles.** In: Reptile Medicine and Surgery, Elsevier Saunders, 2ªed. 1251p. 2006.

CAMPBELL, T.W. **Exotic Animal Hematology and Cytology.** Editora Wiley Blackwell, 4ªEd. 421p. 2015.

CANFIELD, P. **Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals.** Aust. Vet. J., v. 76(12), p.793-800, 1998.

CHANSUE, N.; SAILASUTA, A.; TANGTRONGPIROS, J.; WANGNAITHAM, S.; ASSAWAWONGKASEM, N. **Hematology and clinical chemistry of adult yellow-headed temple turtles (*Hieremys annandalii*) in Thailand.** Veterinary Clinical Phatology, v. 40(2), 174-184p. 2011.

CENTRO DE PREVISÃO DE TEMPO E ESTUDOS CLIMÁTICOS (CPTEC) / INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE), 2020. **El Niño e La Niña.** Disponível em: <http://enos.cptec.inpe.br/#>. Acessado em: 03/03/2020.

CRAWFORD, N.G.; PARHAM, J.F.; SELLAS, A.B.; FAIRCLOTH, B.C.; GLENN, T.C.; PAPENFUSS, T.J.; HENDERSON, J.B.; HANSEN, M.H.; SIMISON, W.B. **A phylogenomic analysis of turtles.** Molecular Phylogenetics and Evolution, v.83, 250-257p. 2015.

DIAS, C.B.; MOUGHAN, P.J.; WOOD, L.G.; SINGH, H.; GARG, M.L. **Postprandial lipemia: factoring in lipemic response for ranking foods for their healthiness.** Lipids in Health and Disease, v. 178(16), 1-11p. 2017.

DRABKIN, D. **The standardization of hemoglobin measurement.** American Journal Medical Science, v. 215(1), 110-111p. 1948.

DUGUY, R. **Number of blood cells and their variation.** In: Biology of the reptilian, vol.3, part C: Morphology. Ed. Gans C, Parsons TS, Academic Press, London, UK, 93 – 109p. 1970.

FARIAS, I.P.; JEROZOLIMSKI, A.; MELO, A.; VIANA, M.N.; MARTINS, M.; MONJELÓ, L.A.S. **Population genetics of the Amazonian tortoises, *Chelonoidis denticulata* and *C. carbonaria*, (Cryptodira: Testudinidae) in area of sympatry.** Amphibia-Reptilia, v. 28, 357-365p. 2007.

FERREIRA, G.S. **Abordagens convergentes, novidades evolutivas e a origem da carapaça das tartarugas.** Revista da Biologia, v. 16(1), 1-6p. 2016.

FERREIRA, G.S.; WERNEBURG, I. **Evolution, Diversity and Development of the Craniocervical System in Turtles with Special Reference to Jaw Musculature.** Heads, Jaws and Muscles, v. 1, 171-206p. 2019.

FILADELFI, A.M.C.; CASTRUCCI, A.M.L. **Comparative aspects of the pineal/melatonin system of poikilothermic vertebrates.** Journal of Pineal Research, v. 20, 175-186p. 1996.

FRYE, F.L. **Reptile Care.** In: Atlas of Diseases and Treatments. Neptune City: T.F.H. Publications, v.1, 209-224p. 1991.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária.** São Paulo, Editora Livraria Varela, 2ªEd. 206p. 2005.

GELL, D.A. **Structure and function of haemoglobins.** Blood Cells, Molecules and Diseases, v. 70, 13-42p. 2018.

GRIMM, A.M. **How do La Niña events disturb the summer monsoon system in Brazil?** Climate Dynamics, v. 22, 123,138p. 2004.

GOULART, C.E.S. **Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis.** Porto Alegre, Editora Livros de Veterinária, 1ªEd. 330p. 2004.

HAMANN, M.; JESSOP, T.; LIMPUS, C.J.; WHITTIER, J.M. **Interactions among endocrinology, seasonal reproductive cycles and the nesting biology of the female green sea turtle.** Marine Biology, v. 140, 823-830p. 2002.

HAMANN, M.; LIMPUS, C.J.; WHITTIER, J.M. **Seasonal variation in plasma catecholamines and adipose tissue lipolysis in adult female green sea turtle (*Chelonia mydas*).** General and Comparative Endocrinology, v. 130, 308-316p. 2003.

HART, M.G.; SAMOUR, H.J.; SPRATT, D.M.J.; SAVAGE, B.; HAWKEY, C.M. **An analysis of haematological findings on a feral population of alibaba giant tortoises (*Geochelonia gigantea*).** Comparative Haematology International, v. 1(3), 145-149p. 1991.

HARTENSTEIN, V. **Blood cells and blood cell development in the animal kingdom.** Annual Review of Cell and Developmental Biology, v. 22, 677-712p. 2006.

HEDGES, S.B. **Amniote phylogeny and the position of turtles.** BMC Biology, v. 10(64), 1-2p. 2012.

HEISZ, R.R.; HEAD, J.J. **Turtle origins out to sea.** Nature, v. 456(27), 250-451p. 2008.

HILL, R.W.; WYSE, G.A.; ANDERSON, M. **Animal Physiology.** Massachusetts, Editora Sinauer Associates. 3ªEd. 985p. 2012.

HO, S.M.; KLEIS, S.; MCPHERSON, R.; HEISERMANN, G.J.; CALLARD, I.P. **Regulation of Vitellogenesis in Reptiles.** Herpetologica, v. 38(1), 40-50p. 1982.

INNIS, C.; KNOTEK, Z. **Tortoises and Freshwater Turtles.** In: Exotic Animal Laboratory Diagnosis, Editora Wiley Blackwell, 1ªEd. 630p. 2020.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio), 2020. **Fauna Brasileira.**

Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/>. Acesso em: 30/01/2020.

JEROZOLIMSKI, A. **Ecologia de populações silvestres dos jabutis *Geochelone denticulata* e *G. carbonaria* (Cryptodira: Testudinidae) no território da aldeia A`Ukre sul do Pará.** Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2005.

JOHNSTONE, C.P.; LILL, A.; REINA, R.D. **Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology: a review and appraisal.** Biological Reviews, v. 92, 150-168p. 2017.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. 12ªEd. 558p. 2013.

KNOTOVÁ, Z.; DOUBEK, J.; KNOTEK, Z.; HÁJKOVÁ, P. **Blood Cell Morphology and Plasma Biochemistry in Russian Tortoises (*Agrinemys horsfieldi*).** Acta. Vet. Brno., v. 71, 191-198p. 2002.

LAGARDE, F.; BONNET, X.; HENEN, B.; NAGY, K.; CORBIN, J.; LACROIX, A.; TROUVÉ, C. **Plasma steroid and nutrient levels during the active season in wild *Testudo horsfieldi*.** General and Comparative Endocrinology, v. 134, 139-146p. 2003.

LANCE, V.A. **Reptilian reproductive cycles.** In.: Encyclopedia of Reproduction, vol.4. San Diego: Academic Press. 260-265p. 1998.

LAURIN, M.; REISZ, R.R. **A reevaluation of early amniote phylonegy.** Zoological Journal of the Linnean Society, v.113, 165-223p. 1995.

LE, M.; RAXWORTHY, C.J.; MCCORD, W.P.; MERTZ, L. **A molecular phylogeny of tortoises (Testudines: Testudinidae) based on mitochondrial and nuclear genes.** Molecular Phylogenetics and Evolution, v. 40, 517-531p. 2006.

LEE, M.S.Y. **Paleontology: Turtles in Transition.** Dispatch, v. 23(12), 513-515p. 2013.

LEWBART, G.A.; GRIFFIOEN, J.A.; SAVO, A.; MUÑOZ-PÉREZ, J.P.; ORTEGA, C.; LOYOLA, A.; ROBERTS, S.; SCHAAF, G.; STEINBERG, D.; OSEGUEA, S.B.; LEVY, M.G.; PÁEZ-ROSAS, D. **Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chatamensis*).** Conservation Physiology, v. 6, 1-8p. 2018.

LI, C.; FRASER, N. C.; RIEPPEL, O.; WU, X.C. **A Triassic stem turtle with an edentulous beak.** Nature, v. 560, 476-560p. 2018.

LI, C.; WU, X.C.; RIEPPEL, O.; WANG, L.T.; ZHAO, L.J. **An ancestral turtle from the Late Triassic of southwestern China.** Nature, v. 456, 597-501p. 2008.

LUTFULLAH, G.; KHALIL, H.S.; AMIN, F.; AZHAR, N. **Low Oxygen Affinity in Reptile Hemoglobin D: Prediction of Residue Interactions in *Geochelone carbonaria* HbD by Homology Modeling.** Protein J., v. 27, 141-150p. 2008.

LYSON, T.R.; BEVER, G.S.; SCHEYER, T.M.; HSIANG, A.Y.; GAUTHIER, J. A. **Evolutionary Origin of the Turtle Shell.** Current Biology, v.23, 1113-1119p. 2013.

MARTINS, G.S.; ALEVI, K.C.C.; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V.; BONINI-DOMINGOS, C.R. **Cytochemical characteristics of blood cells from Brazilian tortoises (Testudines: Testudinidae)**. Genetics and Molecular Research, v. 15(1), 1-7p. 2016.

MELO, M.B.; BORDIN, S.; DUARTE, A.S.S.; OGO, S.H.; TORSONI, M.A.; SAAD, S.T.O.; COSTA, F.F. **Molecular characterization of hemoglobin α -D chains from *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* land turtles**. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, v. 134, 389-395p. 2003.

MOLINA, F.B. **O Comportamento Reprodutivo dos Quelônios**. Biotemas, v. 5(2), 61-70p. 1992.

MOLLES, M.C. JR.; SHER, A.A. **Ecology: Concepts & Applications**. New York, Editora McGraw Hill Education, 8ªEd. 593p. 2018.

MÜLLER, J. **Early loss and multiple return of the lower temporal arcade in diapsid reptiles**. Naturwissenschaften, v. 90, 473-476p. 2003.

NATT, M.; HERRICK, C.A. **A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken**. Poultry Science, v. 31(4), 735-738p. 1952.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre, Editora Artmed, 6ªEd. 1250p. 2014.

OSBORN, H.F. **On the primary division of the Reptilia into two sub-classes, Synapsida and Diapsida**. Science, v.7, 275-276p. 1903.

PENG, F.; CHEN, X.; MENG, T.; LI, E.; ZHOU, Y.; ZHANG, S. **Hematology and serum biochemistry parameters of captive Chinese alligators (*Alligator sinensis*) during the active and hibernatin periods**. Tissue and Cell, v. 51, 8-13p. 2018.

PEREIRA, P.V.R. **Perfil bioquímico sérico de jabutis *Chelonoidis carbonaria* (Reptilia, Testudinidae) mantidos em cativeiro**. Dissertação (mestrado) – Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, 85f. 2015.

PERRY, S.M.; MITCHELL, M.A. **Reproductive Medicine in Freshwater Turtles and Land Tortoises**. Veterinary Clinics Exotic Animal Practice, v. 20(2), 371-389p. 2017.

POIAN, A.T.; CARVALHO-ALVES, P.C. **Hormônios e Metabolismo: Integração e Correlações Clínicas**. São Paulo, Editora: Atheneu. 353p. 2005.

POUGH, F.H.; JANIS, C.M.; HEISER, J.B. **Vertebrate Life** Editora Pearson Education, 9ªEd. 729p. 2013.

REITER, R.J.; TAN, D.X.; MANCHESTER, L.C.; PAREDES, S.D.; MAYO, J.C.; SAINZ, R.M. **Melatonin and Reproduction Revisited**. Biology of reproduction, v. 81, 445-456p. 2009.

REITER, R.L.; TAN, D.X.; FUENTES-BROTO, L. **Melatonin: a multitasking molecule**. In: Neuroendocrinology: The Normal Neuroendocrine System. Editora Elsevier, 127p. 2010.

RODGERS, E.M.; FRANKLIN, C.E. **Physiological mechanisms constraining ectotherm fright-drive performance at elevated temperatures.** The Company of Biologists, v. 220, 3556-3564p. 2017.

ROSTAL, D.C.; ROBECK, T.R.; GRUMBLES, J.S.; BURCHFIELD, P.M.; OWENS, D.W. **Seasonal Reproductive Cycle of the Galápagos Tortoises (*Geochelone nigra*) in Captivity.** Zoo Biology, v.17, 505-517p. 1998.

ROUGHGARDEN, J. **Evolução do Gênero e da Sexualidade.** Editora Planta, 446p. 2005.

SALAKKIJ, C.; SALAKIJ, J.; APIBAL, S.; NARKKONG, N.; CHANHOM, L.; ROCHANAPAT, N. **Hematology, Morphology, Cytochemical Staining, and Ultrastructural Characteristics of Blood Cells in King Cobra (*Ophiophagus hannah*).** Veterinary Clinical Pathology, v. 31(3), 116-126p. 2002.

SCHECHTER, A.N. **Hemoglobin research and the origins of molecular medicine.** Blood, v. 112, n.10, p.3927-3938, 2008.

SCHRAMM, B.G.; CASARES, M.; LANCE, V.A. **Steroid Levels and Reproductive Cycle of the Galápagos Tortoise, *Geochelone nigra*, Living under Seminatural Conditions on Santa Cruz Island (Galápagos).** General and Comparative Endocrinology, v.114, 108-120p. 1999.

SEIVERD, C.E. **Hematology for medical technologists.** Philadelphia, Editora Lea and Febiger. 4ªEd. 840p. 1927.

SHISHIKURA, F. **The Primary Structure of Hemoglobin D from the Aldabra Giant Tortoise, *Geochelone gigantea*.** Zoological Science, v. 19(2), 197-206p. 2002.

SIBEAUX, A.; MICHEL, C.L.; BONNET, X.; CARON, S.; FOURNIÈRE, K.; GAGNO, S.; BALLOUARD, J. **Sex-specific ecophysiological response to environmental fluctuations of free-ranging Hermann's tortoises: implication for conservation.** Conservation Physiology, v. 4, 1-16p. 2016.

SILVA, T.L. **Análise Morfológica e Filogenética em jabutis Brasileiros (Testudines).** Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – IBILCE/UNESP, 186f. 2015.

SILVA, T.L. **Estudo morfológico e citogenético em duas espécies de jabutis do gênero *Chelonoidis* (Fritzinger, 1835) (Testudines).** Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – IBILCE/UNESP, 116f. 2011.

SILVA, T.L.; SILVA, M.I.A.; VENANCIO, L.P.R.; ZAGO, C.E.S.; MOSCHETTA, V.A.G.; LIMA, A.V.B.; PEREIRA, T.L.C.; BACCHI, J.B.; VIZOTTO, L.D.; BONINI-DOMINGOS, C.R.; OLIVEIRA, M.T.V.A. **Blood sampling in Testudinidae and Chelidae.** Herpetological Review, v. 43(1), 64-65p. 2012.

SIMPSON, G.G. **A Miocene tortoise from Patagonia.** American Museum Novitates, v. 1209, 1-8p. 1942.

SINERVO, B.; MILES, D.B. **Hormones and behavior of reptiles**. In: Hormones and Reproduction of Vertebrates: Volume 3: Reptile. Elsevier Inc. 1^oed. 413p. 2011.

SNYDER, G.K.; SHEAFORD, B.A. **Red Blood Cells: Centerpiece in the Evolution of the Vertebrate Circulatory System**. Amer. Zoo., v. 39, 189-198p. 1999.

SOUSA, R.P.; NOGUEIRA, L.F.S.; PESSOA, G.T.; FEITOSA, M.L.T.; CARVALHO, M.A.M.; MOURA, W.L. **Morphological analysis of peripheral blood cells of *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824)**. Biosci. J., v. 31(1), 242-247p. 2015.

SOUZA, C.Z. **Avaliação hematológica e metabólica de *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) submetidos à hipóxia**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – IBILCE/UNESP, 76f. 2018.

STACY, B.; WHITAKER, N. **Hematology and Blood Biochemistry of Captive Mugger Crocodiles (*Crocodylus palustris*)**. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, v. 31(3), 339-347p. 2000.

STACY, N.T.; ALLEMAN, A.R.; SAYLER, K.A. **Diagnostic Hematology of Reptiles**. Clin. Lab. Med., v. 31, 97-108p. 2011.

STORZ, J.F.; OPAZO, J.C.; HOFFMANN, F.G. **Gene duplication, genome duplication, and the functional diversification of vertebrate globins**. Molecular Phylogenetics and Evolution, v.66, p.469-478, 2013.

SYKES, J.M.; KLAPHAKE, E. **Reptile Hematology**. Veterinary Clinics Exotic Animal Practice, v. 11, 481-500p. 2008.

TEIXEIRA, C.M.C. **Avaliação radiográfica, ultrassonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, LINEU, 1766)**. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 96f. 2009.

THE WEATHER CHANNEL, 2020.

Disponível em: <https://weather.com/> <acessado em: janeiro/2020>

TORSONI, M.A.; STOPPA, G.R.; TURRA, A.; OGO, S.H. **Functional Behavior of Tortoise Hemoglobin *Geochelone denticulata***. Braz. J. Biol., v. 62(4A), 725-733p. 2002.

TOSINI, G. **The pineal complex of reptiles: physiological and behavioral roles**. Ethology Ecology & Evolution, v. 9, 313-333p. 1997.

VANZOLINI, P.E. **A note on reproduction of *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* (Testudines, Testudinidae)**. Rev. Brasil. Biol., v. 59(4), 593 – 608p. 1999.

VASCONCELOS, V.S.; OLIVEIRA, M.N.; SILVA, T.L. **Conscientização sobre o consumo de quelônios na Reserva Extrativista Riozinho da Liberdade, Acre – Brasil.** Resvista COMMUNITAS, v. 3(5), 157-171p. 2019.

VENANCIO, L.P.R.; SILVA, M.I.A.; SILVA, T.L.; MOSCHETTA, V.A.G.; ZUCCARI, D.A.P.C.; ALMEIDA, E.A.; BONINI-DOMINGOS, C.R. **Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 97, 1-9p. 2013.

VENANCIO, L.P.R.; ZUCCARI, D.A.P.C.; BONINI-DOMINGOS, C.R. **Geoffroy's side-necked turtle [*Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812), Testudines: Chelidae] as a model for evolutionary ecotoxicology: relationship between environmental contamination, conditions and genetic variability.** Genetics and Molecular Research, v. 12(4), 6858-6859p. 2013.

VIVIEN-ROELS, B.; PÉVET, P.; CLAUSTRA, B. **Pineal and Circulating Melatonin Rhythms in the Box Turtle, *Terrapene Carolina triunguis*: Effect of Photoperiod, Light Pulse and Environmental Temperature.** General and Comparative Endocrinology, v. 69, 163-173p. 1988.

WATSON, D.M.S. ***Eunotosaurus africanus* Seeley, and the ancestry of the Chelonia.** Proceedings of the Zoological Society of London, v. 84(4), 1011-1020p. 1914.

ZHANG, F.; GU, H.; LI, P. **A Review of Chelonian Hematology.** Asian Herpetological Research, v. 2(1), 12-20p. 2011.

ZHAO, D.; YU, Y.; SHEN, Y.; LIU, Q.; ZHAO, Z.; SHARMA, R.; REITER, R.J. **Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants.** Frontiers in Endocrinology, v.10, 1-16p. 2019.

ANEXO A – Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – IBILCE/UNESP)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

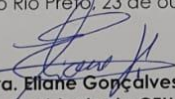
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – IBILCE/UNESP-CSJRP

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Perfil hematológico, bioquímico e hormonal de jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonarius*)", registrada com o nº. 193/2018 - CEUA, sob a responsabilidade da Professora Doutora Claudia Regina Bonini Domingues, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou de ensino), encontra-se de acordo com os Preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), do IBILCE/UNESP, em reunião de 23 de outubro de 2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	23/10/2018 a 15/10/2019
Espécie/linhagem/Raça	<i>Chelonoidis carbonarius</i>
Nº de animais	10 (dez)
Peso/Idade	Aproximadamente 10Kg/Maiores de 05 anos
Sexo	Fêmea e Macho
Origem	Animais que estão em cativeiro no Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira/SP

São José do Rio Preto, 23 de outubro de 2018.


Prof. Dra. Eliane Gonçalves de Freitas
Presidente da CEUA

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Comissão de Ética no Uso de Animais
 Rua Cristóvão Colombo, 2265 - Jardim Nazareth - CEP 15054-000 São José do Rio Preto - SP - Brasil
 Tel: (17) 3221-2428 / 3221-2563

ANEXO B - Hemograma

Hematócrito (Ht)

Princípio da Técnica

O hematócrito possui o objetivo de verificar o volume globular sanguíneo a partir de uma comparação proporcional entre os glóbulos vermelhos e o plasma. Resumidamente, ele é capaz de mostrar a proporção de eritrócitos no sangue.

Procedimento

- Homogeneizar a amostra com delicadeza e posteriormente, preencher $\frac{3}{4}$ do tubo capilar de microhematócrito com sangue;
- Fechar a extremidade aberta do tubo e colocá-lo na centrífuga própria para microhematócrito por cinco minutos a 13.000 rpm;
- Fazer a leitura do resultado utilizando o cartão de referência, cujos valores são dados em porcentagem de volume celular em relação ao total.

Concentração de Hemoglobina (Hb)

Princípio da Técnica

O método de análise da concentração de hemoglobina circulante no sangue ocorre a partir da presença de cianometahemoglobina, cuja presença advém a partir da transformação da hemoglobina e seus derivados por um reativo especial a base de cianeto. Em seguida, a amostra é quantificada por espectrofotometria.

Procedimento

- Adicionar 20 µL da amostra em 5mL de Solução Drabkin (1948) e homogeneizar;
- Medir em espectrofotômetro com comprimento de onda 540 nm. O resultado da leitura da absorbância é multiplicado por um fator de correção (FC), cujo cálculo ocorre a partir da divisão entre a concentração e absorbância (C/A) de uma amostra padrão;
- Medir o espectrofotômetro com comprimento de onda 540nm. O resultado da leitura da absorbância deve ser dividido por 15,3 e multiplicado por 250 como fator de correção, tendo a concentração de hemoglobina em mM. Esse total, deve ser multiplicado por 1,7, que irá fornecer a concentração em g/dL.

Reagentes da Solução Drabkin (1948):

- 0,20g de ferricianeto de potássio (C₆N₆FeK₃);

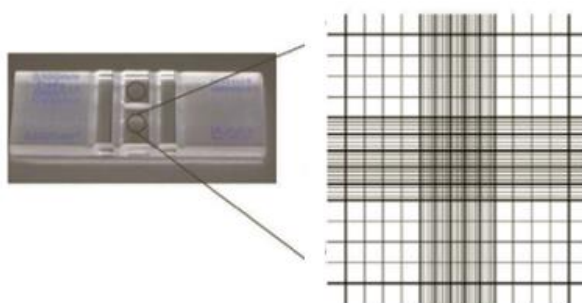
- 0,20g de cianeto de potássio (KCN);
- 1000 mL de água destilada q.s.p.

Contagem Global das Células Sanguíneas

Princípio da Técnica

Devido a presença de núcleo nas células vermelhas e trombócitos, a contagem celular dos répteis deve ser realizada de forma manual e não automatizada, segundo Frye (1991). Seus métodos permitem calcular o número absoluto de células de um determinado volume de amostra. A técnica consiste em colocar uma solução contendo amostra de sangue diluída junto de um reativo apropriado para o tipo celular estudado em uma Câmara de Neubauer (Figura 17). Em instantes, os elementos irão sedimentar no fundo da câmara, o qual é todo quadriculado, permitindo realizar os cálculos necessários para a contagem das células, obtendo resultados expressos em μL .

Figura 17. Imagem da Câmara de Neubauer, demonstrando pelo círculo as duas áreas de observação para contagem das células. A direita, uma imagem microscópica da área quadriculada de um dos círculos.



Fonte: Adaptado de BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017.

Procedimento

Para os eritrócitos, segue:

- Com pipeta de Thomas, aspirar sangue total homogeneizado até a graduação 1 e completar com a solução de Natt and Herrick (1952) até a marca 101;
- Agitar a pipeta com movimentos circulares, homogeneizando a mistura;
- O sangue, então diluído em 1:100, deve permanecer de um a dois minutos na pipeta.

- As primeiras gotas devem ser desprezadas e em seguida, a pipeta deve ser colocada na abertura da câmara de Neubauer, formando entre elas um ângulo de 45°, enchendo-a com o líquido que penetrar por capilaridade;

- Deixar a câmara em local úmido por cinco minutos, para perfeita sedimentação dos eritrócitos;

- O número total de eritrócitos nos cinco pequenos quadrantes (quatro das extremidades e o central) na área do grande quadrado central da câmara (Figura 18) é determinado no microscópio, em objetiva de 40x (aumento de 400 vezes);

- O valor total dessa contagem (N) deve ser multiplicado por 5000 vezes, valor que considera a diluição, a altura da câmara e a área contada, resultado no valor estimado de eritrócitos.

Apesar de semelhante, a contagem de leucócitos difere da anterior, seguindo os passos:

- Com a pipeta de Thomas, aspirar sangue até a graduação 1 e completar com a solução de Natt and Herrick (1952) até a marca 11.

- Agitar a pipeta com movimentos circulares, homogeneizando a mistura;

- O sangue, agora diluído em 1:10, deve permanecer de um a dois minutos na pipeta.

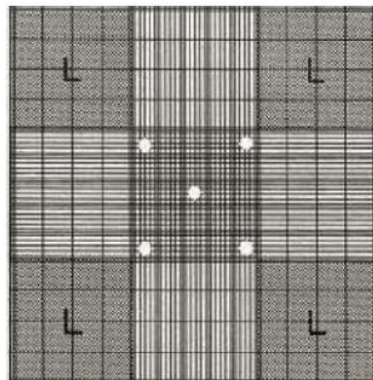
- As primeiras gotas devem ser desprezadas e em seguida, a pipeta deve ser colocada na abertura da câmara de Neubauer, formando entre elas um ângulo de 45°, enchendo-a com o líquido que penetrar por capilaridade;

- Deixar a câmara em local úmido por cinco minutos, para perfeita sedimentação dos leucócitos;

- Com a iluminação reduzida do microscópio, observar primeiramente na objetiva de 10x, para verificar a distribuição das células, em seguida, passar para a objetiva de 40x e fazer a contagem dos leucócitos nos quatro quadros laterais da câmara;

- O valor desta contagem é multiplicado por 1000, resultando no total de leucócitos expresso em μL .

Figura 18. Imagem microscópica representando o interior da Câmara de Neubauer, onde é realizada a contagem das células. Os quadrantes representados pela letra L são utilizados para contagem de leucócitos, enquanto que os quadrantes com os círculos brancos são utilizados para contagem de eritrócitos.



Fonte: Adaptado de BONINI-DOMINGOS; OLIVEIRA, 2017.

Reagentes

A solução Natt and Herrick (1952) é utilizada como diluidor para as contagens de eritrócitos e leucócitos, além de destaca-las com coloração azul anil. A sua vantagem é que os resultados podem ser obtidos com o uso do mesmo hemocitômetro. Já sua desvantagem está na dificuldade na identificação de pequenas células, além do uso de pipetas diluidoras manuais e do preparo da solução diluidora, seguindo os passos:

- 3,88g de cloreto de sódio (NaCl);
- 2,50g de sulfato de sódio (Na₂SO₄);
- 2,91g de fosfato de sódio dibásico dodecahidratado (Na₂HPO₄.12H₂O);
- 0,25g de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄);
- 7,50mL de formalina (37%);
- 0,10g de metil violeta 2B;
- 1000mL de água destilada q.s.p.

A solução é mantida em recipiente de vidro escuro, em temperatura ambiente *overnight* e filtrada antes do uso.

Contagem Diferencial de Leucócitos

Princípio da Técnica

A contagem diferencial de leucócitos tem por objetivo proporcionar uma porcentagem dos diferentes tipos celulares da linhagem branca presente em uma gota da amostra sanguínea. Esse tipo de amostragem é realizado a partir da análise do esfregaço sanguíneo corado e é de extrema importância para análises clínicas e da saúde dos animais.

Procedimento

- Utiliza-se o esfregaço sanguíneo, feito com uma gota da amostra de sangue total, que é estendida sobre uma lâmina de vidro com ajuda de uma segunda lâmina e corado com Panótico (*Hematocor-Biológica*®);
- O esfregaço é observado ao microscópio com objetiva de imersão a óleo (100x);
- Contam-se 100 células, anotando cada tipo diferencial e, ao final, são estabelecidos os valores percentuais relativos de cada tipo leucocitário.

ANEXO C – Bioquímica Metabólica

Análise Bioquímica

Princípio da Técnica

As análises de concentração bioquímica de glicose, colesterol e triglicérides serão determinadas a partir do sistema enzimático (metodologia de Coloração Enzimática de Trinder), descrito pela LabTest Diagnósticos S.A. em seu manual de uso do kit comercial de Glicose Liquiform (Ref.: 133), Colesterol Liquiform (Ref.: 67) e Triglicérides Liquiform (Ref.: 87), respectivamente.

Procedimentos

O procedimento para realização das análises bioquímicas, segue os passos a seguir:

- Utilizar três tubos de ensaio, para respectivos componentes: branco, padrão e teste;
- Acrescentar 1,0mL de Reagente nº1 em cada um dos tubos, seguido de 0,01mL de Padrão nº2 no tubo padrão e 0,01mL de Amostra no tubo teste;
- Misturar vigorosamente e colocar em banho-maria a 37°C durante dez minutos;
- Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 505nm ou filtro verde (490 a 520nm), acertando o zero como branco.

Para averiguar a linearidade das concentrações (Figura 19), o resultado final será a absorbância do teste multiplicado pelo fator de calibração, que pode ser calculado pela divisão de 100 pela absorbância padrão, sendo ele, expresso em mg/dL, para glicose e o mesmo para colesterol e triglicérides, porém, o fator de calibração deverá ser a divisão de 200 pela absorbância padrão.

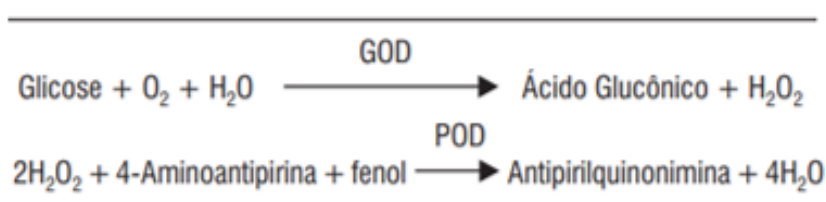
Figura 19. Cálculo da linearidade dos resultados da análise de glicose, colesterol e triglicérides sanguínea.

Glicose (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator Fator de Calibração = $\frac{100}{\text{Absorbância do Padrão}}$
Colesterol (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator Fator de Calibração = $\frac{200}{\text{Absorbância do Padrão}}$
Triglicérides (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator Fator de Calibração = $\frac{200}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Dosagem de Glicose no Plasma Sanguíneo

Para a análise da glicose (Figura 20) parte-se do princípio que a glicose-oxidase irá catalisar a oxidação da glicose, resultando em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, que por sua vez, irá reagir com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, por meio de uma reação de acoplamento, formando uma antipirilquinonimina de cor vermelha, cuja intensidade será proporcional à concentração de glicose na amostra.

Figura 20. Princípio ativo da Glicose Liquiform (Ref.: 133) para análise de glicose no plasma sanguíneo.

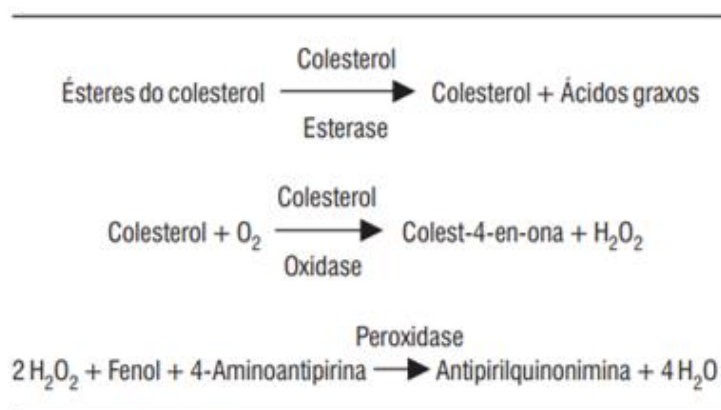


Fonte: Adaptado de Instrução de Uso, LabTest Diagnóstica R.A., 2020.

Dosagem de Colesterol no Plasma Sanguíneo

Na análise do colesterol (Figura 21) os ésteres de colesterol serão hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase a colest-4-en-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina serão oxidadas formando a antipirilquinonimina que possui absorvância máxima em 500nm, cuja intensidade da coloração vermelha será diretamente proporcional a concentração de colesterol no sangue.

Figura 21. Princípio ativo da Colesterol Liquiform (Ref.: 76) para análise de colesterol no plasma sanguíneo.

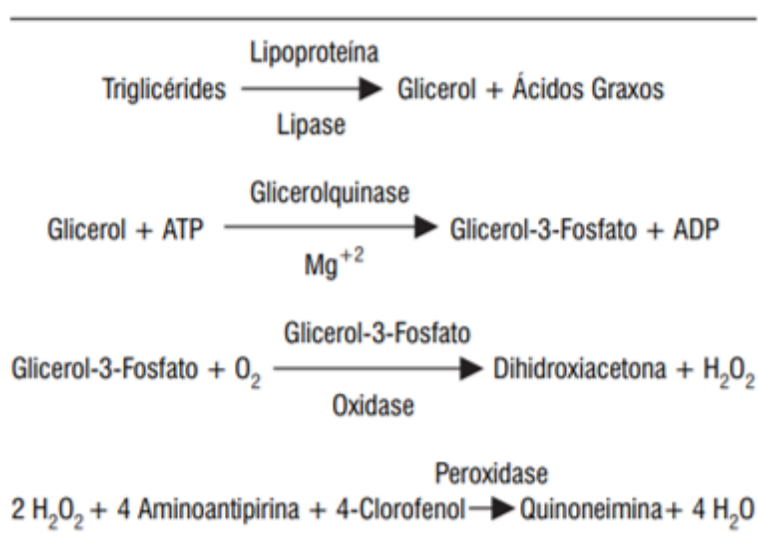


Fonte: Adaptado de Instrução de Uso, LabTest Diagnóstica R.A., 2020.

Dosagem de Triglicérides no Plasma Sanguíneo

Para a quantificação de triglicérides (Figura 21) a lipoproteína lipase provocará a hidrólise dos triglicérides liberando glicerol, que será convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Esse é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio, na presença da glicerolfosfato oxidase. Em seguida, ocorre uma reação de acoplamento entre o peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4 clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneimina que tem máxima absorbância em 505nm, cuja intensidade da coloração vermelha será diretamente proporcional a concentração de triglicérides no sangue.

Figura 22. Princípio ativo da Triglicérides Liquiform (Ref.: 87) para análise de triglicérides no plasma sanguíneo.



Fonte: Adaptado de Instrução de Uso, LabTest Diagnóstica R.A., 2020.