



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical
Mestrado e Doutorado
UNIFAP / EMBRAPA-AP / IEPA / CI-Brasil



ALEXANDRE RENATO PINTO BRASILIENSE

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Podocnemis unifilis* (TRACAJÁ), EM FASE JUVENIL,
ALIMENTADOS COM RAÇÕES COMERCIAIS DE DIFERENTES NÍVEIS PROTEICOS

MACAPÁ, AP
2019

ALEXANDRE RENATO PINTO BRASILIENSE

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Podocnemis unifilis* (TRACAJÁ), EM FASE JUVENIL,
ALIMENTADOS COM RAÇÕES COMERCIAIS DE DIFERENTES NÍVEIS PROTEICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBIO) da Universidade Federal do Amapá, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Orientadora: Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka

MACAPÁ, AP
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Elaborada por Cristina Fernandes – CRB2/1569

Brasiliense, Alexandre Renato Pinto.

Respostas fisiológicas de *Podocnemis unifilis* (tracajá), em fase juvenil, alimentados com rações comerciais de diferentes níveis proteicos. / Alexandre Renato Pinto Brasiliense ; Orientadora, Eliane Tie Oba Yoshioka. – 2019.
54 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical.

1. Cultivo de quelônios. 2. Quelonicultura. 3. Hematologia. 4. Tracajá – Amazônia. I. Yoshioka, Eliane Tie Oba, orientadora. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

597.92 B823r
CDD. 22 ed.

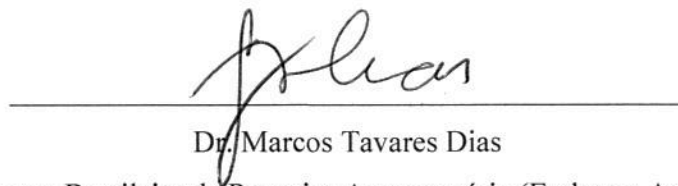
ALEXANDRE RENATO PINTO BRASILIENSE

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Podocnemis unifilis* (TRACAJÁ), EM FASE JUVENIL,
ALIMENTADOS COM RAÇÕES COMERCIAIS DE DIFERENTES NÍVEIS PROTEICOS



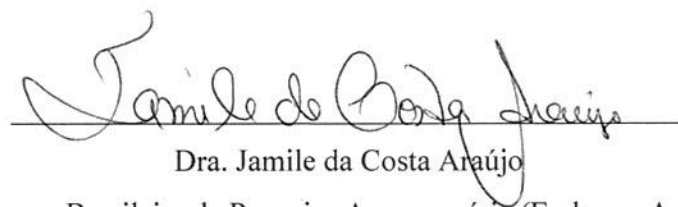
Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amapá)



Dr. Marcos Tavares Dias

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amapá)



Dra. Jamile da Costa Araújo

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amapá)

Aprovada em 26 de março de 2019, Macapá, AP, Brasil

***“Porque para Deus nada
será impossível”.***
Lucas 1,37.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força, sabedoria e direcionamento para um caminho de vitória.

À família e amigos, pois não somos NADA sem o apoio daqueles que amamos.

À minha mãe Eileen Aranha, que sempre acreditou e acredita no meu potencial, incentivando mesmo nos momentos que tentei desistir.

A meu pai Renato Brasiliense, minha avó paterna Maria Alves (*in memoriam*), meu padrasto Reginaldo Andrade, meus avós maternos José Pinto e Ruth Aranha e meus tios Wendel Aranha e Soliane Mesquita por serem meus ídolos e influenciadores nas minhas escolhas profissionais.

À minha esposa Ana Brasiliense, que me deu força e sempre esteve ao meu lado contribuindo para o êxito do mestrado.

A meus filhos Luna e Abraão Brasiliense, por serem os meus amores, minha força e fonte de inspiração para continuar buscando uma melhor condição de vida.

À minha orientadora Eliane Yoshioka, por sempre estar de portas abertas para me receber e por ser mãe, amiga, professora, orientadora e compartilhadora de toda sua experiência científica, me tornando um profissional melhor e mais capacitado.

Aos pesquisadores, amigos e colaboradores da Embrapa Amapá, pois sem a ajuda deles não seria possível a execução das atividades do projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical – PPGBIO/UNIFAP e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado e pelo financiamento, respectivamente.

Aos professores do PPGBIO/ UNIFAP, pelos ensinamentos, repreensões e parcerias propostas para o meu enriquecimento profissional para enfrentar o mercado de trabalho.

Aos amigos mestrandos e doutorandos do PPGBIO/UNIFAP, pelos dias sem dormir e sem comer devidamente, mas repleto de muito companheirismo e alegria, o que foi fundamental para a caminhada do mestrado até o final.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Amapá pelo apoio logístico, estrutural e por conceder todo o suporte necessário.

Ao Banco da Amazônia pelo financiamento do “Projeto Amapajá”.

RESUMO

Brasiliense, Alexandre Renato Pinto. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Podocnemis unifilis* (TRACAJÁ), EM FASE JUVENIL, ALIMENTADOS COM RAÇÕES COMERCIAIS DE DIFERENTES NÍVEIS PROTEICOS. Macapá, 2019. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

A quelonicultura é uma alternativa para produção de alimento proteico de elevado valor nutritivo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas fisiológicas (hematológicas e bioquímicas) de juvenis de *Podocnemis unifilis* (tracajá), alimentados com rações comerciais contendo diferentes níveis de proteína bruta (PB), durante 180 dias de cultivo. Foram utilizados 120 animais divididos em quatro grupos experimentais (três réplicas), de acordo com a quantidade de proteína ofertada na ração: 28, 32, 36 e 40%. Avaliou-se a composição bromatológica das rações, os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos dos tracajás após 60, 120 e 180 dias de alimentação. Os juvenis de tracajá que receberam ração com 28% de PB, após 60 dias, apresentaram aumento da atividade respiratória dos leucócitos (burst) em relação aos demais grupos. Quando foi comparado os diferentes períodos de alimentação para este grupo, reduções nas concentrações plasmáticas de glicose e proteína totais ($P < 0,05$) foram observadas entre as avaliações de 60 e 180 dias de alimentação. A maior disponibilidade de matéria seca, cinzas e fósforo da ração com 32% de PB pode ter influenciado o trânsito do alimento no trato digestível dos juvenis de tracajá, o que pode ter levado à redução da concentração de hemoglobina corpuscular média e dos triglicérides dos animais aos 120 e 180 dias, respectivamente, quando comparado com os demais grupos. Os tracajás que receberam ração com 32% de PB também apresentaram reduções significativas para as concentrações de glicose, proteínas totais, albumina e triglicérides quando avaliados os diferentes períodos, aos 120 ou aos 180 dias experimentais. A ração com 36% de PB proporcionou estabilidade para os níveis de proteínas totais e colesterol nos diferentes períodos. Já os animais que receberam ração com 40% de PB apresentaram melhora significativa para o número de eritrócitos, menores oscilações para a atividade respiratória de leucócitos e estabilidade para a concentração de glicose. Assim, pode-se recomendar o uso de ração comercial com composição similar à utilizada no presente estudo, com 36% de PB, na alimentação de juvenis de tracajás para o melhor custo benefício no cultivo.

Palavras-chave: Cultivo; quelônios; hematologia; sangue.

ABSTRACT

Brasiliense, Alexandre Renato Pinto. PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF JUVENILE *Podocnemis unifilis* (YELLOW-SPOTTED AMAZON RIVER TURTLES), FED COMERCIAL RATIONS OF DIFFERENT PROTEIN LEVELS. Macapá, 2019. Dissertation (Master in Tropical Biodiversity) – Postgraduate Program on Tropical Biodiversity – Pro-rectory of Research and Postgraduate – Federal University of Amapá.

Turtle farming is an alternative for food production with high nutritional value. The objective of the present study was to evaluate the physiological responses (hematological and biochemical) of juvenile of *Podocnemis unifilis* (yellow-spotted Amazon river turtles) fed with commercial rations with different crude protein (CP) levels during 180 days. A number of 120 animals were divided into four experimental groups (three replications), according to the amount of protein provided in the feeds (28, 32, 36 and 40% CP). Feed bromatological composition and the hematological and biochemical parameters of yellow-spotted Amazon river turtles were analyzed after 60, 120, and 180 days of feeding. Juveniles yellow-spotted Amazon river turtles that received ration with 28% CP, after 60 days, presented increase of the leukocyte respiratory activity (burst) in relation to the other groups. When comparing the different feeding periods for this group, reductions in total protein and glucose concentrations ($P < 0.05$) were observed between the 60 and 180 days feeding evaluations. The higher availability of dry matter, ash and phosphorus from the ration with 32% CP may have influenced the transit of the food in the digestible tract of juvenile yellow-spotted Amazon river turtles. This may have led to the reduction of the mean corpuscular hemoglobin concentration and the triglycerides of the animals at 120 and 180 days, respectively, when compared to the other groups. The yellow-spotted Amazon river turtles that received ration with 32% CP also showed significant reductions in glucose, total protein, albumin and triglycerides when evaluated at different periods, at 120 or 180 experimental days. The 36% CP ration provided stability for total protein and cholesterol levels in the different periods. However, the animals fed with 40% of CP presented a significant improvement in erythrocytes number, lower oscillations for the leukocyte respiratory activity and stability to the glucose concentration. Thus, commercial feed with similar composition to the one used in the present study, that with 36% of CP, can be recommended to feed juvenile yellow-spotted Amazon river turtles for the best cost benefit during farming.

Keywords: Farming; turtle; hematology; blood.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	9
1.1. TRACAJÁ (<i>Podocnemis unifilis</i>)	10
1.2. CULTIVO DE QUELÔNIOS.....	13
1.3. FISIOLOGIA DE QUELÔNIOS	14
2. PROBLEMA.....	18
3. HIPÓTESE.....	18
4. OBJETIVOS	19
4.1. OBJETIVO GERAL	19
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
5. REFERÊNCIAS	20
6. ARTIGO CIENTÍFICO:	25
RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE TRACAJÁ JUVENIS ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA	25
Hematological and biochemical responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle fed different protein levels.....	28
ABSTRACT.....	28
RESUMO.....	29
INTRODUCTION	30
MATERIAL AND METHODS	31
RESULTS	34
DISCUSSION.....	38
CONCLUSION	46
Acknowledgements	47
REFERENCES	47
7. CONCLUSÕES.....	54

1. INTRODUÇÃO GERAL

Intensamente capturados por indígenas, moradores de comunidades ribeirinhas e caçadores, as populações de quelônios silvestres sempre foram uma alternativa de sustento na Amazônia (Almeida e Abe 2009). A exploração desordenada, principalmente do comércio ilegal, implicou em reduções dos estoques naturais dos quelônios amazônicos (Araújo et al. 2013a). A proibição da captura e comercialização de animais silvestres foi determinada pela Lei nº. 5.197/67 - Lei de Proteção à Fauna, deixando a salvo os animais oriundos de criatório comercial (Brasil 1967). Anos depois, foi regulamentado o cultivo e comercialização de quelônios pelas Portarias do IBAMA nº. 142/92 e 070/96, impondo diretrizes para o cultivo e comercialização das espécies *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (IBAMA 1992, 1996). Atualmente, a regulamentação do cultivo de quelônios amazônicos se encontra amparada pelo anexo III da Instrução Normativa nº. 07/2015 do IBAMA, impondo diretrizes para a criação dos seguintes quelônios de água doce: *Podocnemis expansa*, *Podocnemis unifilis*, *Podocnemis sextuberculata* e *Kinosternom scorpioides* (IBAMA 2015).

A criação de quelônios em cativeiro e o estudo da variação da dieta desses animais representa, portanto, uma possível alternativa conservacionista, para diminuir a pressão de caça sobre populações da natureza (Malvasio et al. 2003, Araújo et al. 2013b). O tracajá *P. unifilis* é muito consumido na Amazônia, principalmente, a carne e os ovos desses animais, produtos que fazem parte da mesa das comunidades da região (Duarte et al. 2008), por serem fonte de proteína, ácidos graxos poli-insaturados e minerais importantes (potássio, cálcio, fósforo, ferro, zinco, dentre outros) (Gaspar e Silva 2009).

O cultivo de tracajá apresenta grande potencial econômico (Nascimento et al. 2012) devido ao alto valor agregado aos seus subprodutos e seu potencial cultivável com base no seu porte, a alta prolificidade e rusticidade ao manejo em cativeiro (Sá et al. 2004). No entanto, a falta de conhecimento das exigências nutricionais desses animais (Portal et al. 2002, Rodrigues et al. 2006, Araújo et al. 2013a, Yoshioka et al. 2015, 2017) impossibilita o crescimento dessa atividade, que ainda é pouco expressiva (Nascimento et al. 2012). Nestes termos, o estudo da dieta de quelônios como *P. unifilis* são necessários para a formação do pacote zootécnico desses répteis, que tem poucos estudos das exigências proteicas em cativeiro (Yoshioka et al. 2017).

A hematologia é um método de exame de rotina para a avaliação da condição de saúde de animais, sendo bem aceito na pesquisa (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004). Além disso, é um método pouco invasivo de obtenção de material biológico (Bulté et al. 2006) e, principalmente, disponibiliza um conjunto de informações sobre a fisiologia de quelônios, que tornam possível diagnosticar o estado de saúde dos animais, a partir de uma amostra de sangue (Marcon et al. 2008). Desta forma, a avaliação da condição de saúde de tracajá alimentado com ração comercial, representa uma importante iniciativa rumo ao progresso da quelonicultura, com a produção de informações primordiais para a nutrição desses animais em confinamento.

Estudos sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos e suas relações com a idade (neonatos, jovens e adultos), sexo e tamanho dos animais são escassos (Tavares-Dias et al. 2012). Devido a existência de uma grande lacuna do perfil hematológico e de informações nutricionais de quelônios (Portal et al. 2002, Rodrigues et al. 2006, Araújo et al. 2013a, Oliveira-Júnior et al. 2009, Tavares-Dias et al. 2012, Yoshioka et al. 2015, 2017), que compromete o crescimento, a engorda e a reprodução dos animais em cativeiro (Araújo et al. 2013a), o presente trabalho visa o estudo das condições de saúde do tracajá, na fase juvenil, alimentados em cativeiro com rações comerciais com diferentes níveis de proteína bruta, através das respostas hematológicas e bioquímicas dos animais.

1.1. TRACAJÁ (*Podocnemis unifilis*)

Podocnemis unifilis é uma das três espécies mais importantes que representam o gênero encontrada na Amazônia brasileira (Duarte et al. 2008), peruana (Soini 1996), venezuelana, boliviana, guianense e do surinamense (Nascimento et al. 2012). É um quelônio essencialmente aquático, com as fêmeas adultas podendo pesar em torno de 8 kg e medir cerca de 38 cm de comprimento (Viana et al. 2008). Apresenta elevado potencial cultivável, pelo tamanho expressivo, rusticidade ao manejo e elevada produção de ovos. Além disso, é indicado para o cultivo por ser mais generalista que a tartaruga-da-amazônia *P. expansa*, (Sá et al. 2004) despertando interesse de produtores na sua criação.

Conhecida como tracajá, este quelônio apresenta coloração uniforme, podendo variar de marrom escuro à verde oliva (Barrio-Amóros e Narbaiza 2008) com tendência para o cinza-escuro quando molhada. As patas são curtas e coberta por pele rugosa, apresentando cabeça de

pequeno tamanho quando comparada ao corpo. O formato do crânio é cônico e achatado, com seus olhos bem próximos separando-se por um sulco (Viana et al. 2008). Filhotes e juvenis apresentam cabeça de coloração escura, com pintas amarelas que desaparecem nas fêmeas com a maturidade e permanecem nos machos por toda a vida (Barrio-Amóros e Narbaiza 2008) (Figura 1).



Figura 1 – Espécime juvenil de tracajá (*Podocnemis unifilis*). Fonte: Cantuária (2019).

O tracajá é um animal ectotérmico e necessita da exposição ao calor dos raios solares (Pough et al. 1999, 2008) ou de fontes de calor artificiais para a manutenção da temperatura corpórea. A função inicial da exposição dos quelônios ao calor é a manutenção da temperatura corporal. No entanto, a troca de energia térmica com o ambiente auxilia na digestão, no crescimento, na produção de ovos e ajuda os quelônios a se livrarem de algas e ectoparasitos (Pough et al. 1999). A exposição ao calor também está intimamente ligada a síntese de vitamina D, composto de elevada importância no processo de controle do depósito de cálcio nas estruturas ósseas e do casco dos quelônios (Pough et al. 2008). Assim, a disponibilidade de área seca é fundamental no ambiente de cultivo, pois a digestão do alimento e a absorção dos

nutrientes pelos quelônios estão estritamente ligadas à exposição desses animais a uma fonte de calor.

O tempo de permanência do alimento no sistema digestório de quelônios pode influenciar na absorção dos nutrientes, Almeida e Abe (2009) em estudo com a tartaruga-da-amazônia, *P. expansa*, observaram que elevados teores no alimento de material mineral, como cálcio e fósforo, podem comprometer o trânsito deste no sistema digestível dos animais e, como consequência, a absorção dos nutrientes é comprometida.

O tracajá é uma espécie generalista e de hábito alimentar onívoro (Malvasio et al. 2003, Viana et al. 2008). Quando mantido em cativeiro, apresenta preferência por alimentos de origem animal e de origem vegetal em todas as suas fases de vida. Seu comportamento alimentar em cativeiro consiste em: forrageio, aproximação, reconhecimento olfativo, apreensão, dilaceração e ingestão do alimento. A espécie desenvolve o mecanismo de neustofagia (ingestão de partículas alimentares suspensas na água) com o aproveitamento de partículas provenientes do alimento fornecido (Malvasio et al. 2003), reduzindo as perdas de ração no recinto e evitando o comprometimento da qualidade de água.

A dieta de quelônios pode variar em função do sexo, idade e espécie do indivíduo (Malvasio et al. 2003), mas estudos do comportamento alimentar de quelônios de água doce ainda são escassos (Portal et al. 2002). Na busca pela produção de uma ração para suprir as exigências nutricionais do tracajá em cativeiro, Portal et al. (2002) estudaram os prováveis vegetais que fazem parte da dieta desses quelônios na natureza e identificaram 35 vegetais, tendo como principais: *Commelina longicaulis* (maria-mole) com 20,78%, *Polygonum acuminatum* (pimenteira-brava) com 20,19%, *Aeschymene sensitiva* (corticeira) com 18,93%, *Macrobium aeaciaefolium* (apari) 17,06%, *Oryza grandiglumes* (canarana grande) 15,00%, *Thalia geniculata* (carapuru) 14,14%, *Nymphaeae rudgeana* (apê-grande) 11,55% e *Hymenachinae amplexicaulis* (canarana-do-marajó) com 10,11%, classificados aqui de acordo com o nível de proteína bruta. Entretanto, para que seja viável a utilização destes como matérias primas na composição de uma ração específica para quelônios, estes devem ser produzidos em maior escala e não apenas coletados na natureza. Assim, estudos sobre a produção destas espécies vegetais também devem ser realizados.

Almeida e Abe (2009) estudaram a digestibilidade das farinhas de peixe, de vísceras de aves e de carne e ossos na alimentação de *Podocnemis expansa*. O bom aproveitamento dos nutrientes e da energia dos insumos de origem animal, como o da farinha de vísceras de aves,

mostraram uma excelente alternativa para o fornecimento de proteína animal em substituição a farinha de peixe na dieta das tartarugas-da-amazônia. Altino (2013) estudou a digestibilidade aparente de ingredientes energéticos e proteicos em dietas para o tracajá *P. unifilis*, mostrando que milho, farelos de trigo e de soja e farinha de carne e ossos, podem ser incluídos na dieta dos animais em proporções variadas, sem interferir na eficiência digestiva. Entretanto, a disponibilidade desses ingredientes pode ser baixa em algumas regiões do Brasil. Assim, alternativas devem ser pesquisadas para melhor viabilizar a produção desses animais em cativeiro.

1.2. CULTIVO DE QUELÔNIOS

A dieta de quelônios amazônicos em cativeiro, na maioria das vezes, desenvolve-se por meio da oferta de produtos e subprodutos disponíveis regionalmente e de fácil acesso nas proximidades dos criatórios, caracterizando-se principalmente por grãos, tubérculos, frutas, verduras, dentre outros (Sá et al. 2004). No entanto, com as tecnologias ainda pouco definidas para a nutrição de quelônios em cativeiro, considera-se como a melhor fonte de proteína e nutrientes a ração comercial balanceada para peixes (Portal et al. 2002, Almeida e Abe 2009). Mesmo com a existência de alguns estudos que descrevem a porcentagem de proteína ideal para a alimentação de quelônios, poucos estudos foram direcionados para o tracajá e, menos ainda, avaliando a saúde desses animais (Yoshioka et al. 2017). Assim, o estudo dos efeitos do alimento consumido pelos quelônios em função da espécie e da idade são fundamentais para a criação em cativeiro (Malvasio et al. 2003).

Como ainda existem inúmeras lacunas sobre as exigências nutricionais e alimentares de quelônios do gênero *Podocnemis* (Portal et al. 2002, Sá et al. 2004, Rodrigues et al. 2006, Araújo et al. 2013a, Yoshioka et al. 2017), o cultivo é comprometido por não possuir no mercado rações balanceadas específicas para estes animais (Rodrigues et al. 2006). Desta forma, estudos do comportamento alimentar, dos efeitos do alimento fornecido na saúde e determinação de dietas adequadas para alimentação dos quelônios em cativeiro são fundamentais para o desenvolvimento da atividade de quelonicultura.

Almeida e Abe (2009) observaram boa resposta de filhotes de tartaruga-da-amazônia quando alimentados com insumos de origem animal como farinha de carne e ossos com 42,7%

de PB, farinha de viscerais de aves com 55,5% de PB e farinha de peixe com 56,3% de PB. Entretanto, Portal et al. (2002) recomendam o uso de rações comerciais extrusadas para peixes com níveis proteicos variando de 28% a 30% de proteína bruta para o cultivo de quelônios. Da mesma forma, Sá et al. (2004) em estudo com filhotes de *P. expansa* em cativeiro, concluíram que nos 10 primeiros meses de vida, dietas contendo percentuais de proteína bruta totalmente de origem vegetal acima de 27% possuem um bom crescimento e ganho de peso, tendo sido os melhores resultados observados na dieta com 30% de proteína bruta de origem animal.

Já para filhotes *P. unifilis* em cativeiro, alimentados com rações comerciais para peixes com níveis proteicos variando de 28% a 55%, Yoshioka et al. (2015, 2017) observaram que as melhores respostas hematológicas e bioquímicas foram apresentadas pelos animais que receberam ração contendo 36% de proteína bruta, pois níveis acima, aumentaram a concentração de ureia plasmática e, como consequência, os níveis de amônia na água, o que pode influenciar negativamente na condição de saúde dos animais, nos seis primeiros meses de vida. Em outros estudos com tartaruga-da-amazônia, *P. expansa*, observa-se o uso de rações comerciais para peixes onívoros com níveis proteicos variando entre 24 e 28% de PB (Santos et al. 2005, Santos et al. 2011, Fonseca et al. 2016), uso de macrófitas aquáticas (Oliveira-Júnior et al. 2009, Tavares-Dias et al. 2009) com complemento de insumos como farinha de peixe extrusadas com 34% de PB e, ocasionalmente, com grãos, tubérculos, frutas, verduras e legumes disponíveis regionalmente (Sá et al. 2004, Santos et al. 2005, Oliveira-Júnior et al. 2009, Tavares-Dias et al. 2009, Santos et al. 2011). Esses estudos podem ser utilizados para o desenvolvimento do cultivo do tracajá, pela similaridade entre as duas espécies. Mas, vale ressaltar que segundo Malvasio et al. (2003), a tartaruga-da-amazônia é uma espécie mais herbívora que o tracajá a partir de um ano de vida. Assim, estudos sobre a dieta do tracajá em cativeiro na fase juvenil, e de informações sobre as respostas fisiológicas desses animais alimentados com dietas comerciais com diferentes níveis de proteínas são fundamentais para o desenvolvimento de seu pacote zootécnico.

1.3. FISILOGIA DE QUELÔNIOS

Caracterizada pelo estudo do conjunto de informações do sangue, a hematologia busca medidas dos valores de parâmetros orgânicos basais e não basais determinando o estado de saúde do animal (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004, Morselli et al. 2016). O tecido sanguíneo

é líquido e apresenta funções respiratória, de equilíbrio térmico, de distribuição de nutrientes e de produtos de excreção. Por meio da caracterização fisiológica, morfológica e bioquímica do sangue, podemos diagnosticar a condição de saúde dos animais (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004). O perfil bioquímico do sangue é um exame complementar para um diagnóstico mais preciso, visto que na maioria das vezes a análise somente dos parâmetros hematológicos é insuficiente para o estabelecimento de um diagnóstico completo (Santos et al. 2005).

A avaliação dos parâmetros hematológicos inclui a determinação do hematócrito, da concentração de hemoglobina e do número de eritrócitos. O hematócrito representa a porção de células vermelhas sedimentadas no sangue; a concentração de hemoglobina reflete a capacidade que o sangue tem de transportar o oxigênio e a contagem do número de eritrócitos retrata o número de células vermelhas que circulam em cada milímetro cúbico de sangue. O perfil bioquímico dos animais se dá por meio da avaliação da composição química do plasma (parte líquida do sangue), tornando possível mensurar a quantidade dos principais nutrientes consumidos e exigidos pelos organismos, como a glicose, os triglicérides, o colesterol e as proteínas totais, além dos quantitativos de íons (sódio, fósforo, cloretos, entre outros) e produtos da excreção (Marcon et al. 2008).

O uso da hematologia como método de diagnóstico da condição de saúde dos animais é bem aceito (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004), visto que a colheita de sangue é um método pouco invasivo de obtenção de material biológico comparado a outros métodos de estudo da condição de saúde animal (Bulté et al. 2006). Assim, informações sobre a fisiologia de quelônios podem ser obtidas por meio de um conjunto de parâmetros que podem ser estudados a partir de uma amostra de sangue (Marcon et al. 2008). Por meio dos parâmetros sanguíneos pode-se avaliar efeitos da dieta na função osmorregulatória e as respostas do animal aos estressores ambientais (Tavares-Dias, 2015).

Desta forma, Chen et al. (2007) estudando os efeitos da densidade de estocagem nas respostas do sistema imunológico não-específico de juvenis de *Pelodiscus sinensis* observaram que a maior densidade de estocagem estimula a atividade respiratória e bacteriolítica dos leucócitos. Segundo Marcon et al. (2008), os leucócitos atuam na manutenção da integridade dos tecidos contra antígenos e agentes infecciosos, e pelo equilíbrio imunológico dos répteis. Assim, por meio da atividade respiratória dos leucócitos é possível avaliar os efeitos do manejo utilizado durante o cultivo sobre o sistema imunológico dos quelônios.

Avaliando os parâmetros hematológicos e bioquímicos pode-se determinar o estado de saúde e nutricional de quelônios (Marcon et al. 2008, Tavares-Dias et al. 2009). A criação em ambientes de cativeiro como dietas inadequadas, ambiente em desacordo com as exigências da espécie e altas densidades de estocagens podem ocasionar doenças metabólicas em répteis (Nardini et al. 2013, Campbell 2015b). Entretanto, a existência de poucas informações de referência sobre parâmetros sanguíneos de quelônios cultivados e de ambiente natural, devido aos reduzidos estudos desenvolvidos sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos e suas relações com a idade (neonatos, jovens e adultos), sexo e tamanho dos animais (Tavares-Dias et al. 2012), dificulta o diagnóstico preciso. Essa escassez de informações, dificulta o progresso da quelonicultura, principalmente, pelo pouco conhecimento da dieta adequada dos animais em cativeiro em suas diferentes fases de vida, bem como de parâmetros de referência para os parâmetros sanguíneos de quelônios do gênero *Podocnemis*, fundamentais para verificar o estado de saúde e nutricional dos animais em cativeiro.

A nutrição inadequada de tartarugas-da-amazônia, *P. expansa*, levou a anemia normocítica-hipocrômica grave nos animais com reduções de hematócrito, concentração de hemoglobina, número de eritrócitos, proteína total, glicose e colesterol (Tavares-Dias et al. 2009), mostrando que esses parâmetros são bons indicadores para a determinação do estado nutricional de quelônios. Volume corpuscular médio (VCM) reduzido foi observado em quelônios submetidos a perda de água por dessecação. Por meio desse parâmetro hematológico determina-se o equilíbrio hídrico ou eletrolítico dos animais. Além disso, reduções da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) dos quelônios podem indicar uso de dieta deficiente em ferro, mineral fundamental na síntese da hemoglobina (Marcon et al. 2008). No plasma, a concentração de proteínas totais é um dos principais indicadores do estado nutricional de quelônios (Morselli et al. 2016) e o consumo de glicose pode ser diretamente influenciado pela resposta metabólica dos animais ao estresse (Campbell 2015b). Desta forma, a avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos como ferramenta de diagnóstico, além de bem aceita (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004) é fundamental para a determinar a dieta ideal para o cultivo de quelônios.

Filhotes de tracajá *P. unifilis* alimentados com dietas com diferentes níveis proteicos (28, 36, 45 e 55% de PB) na ração comercial para peixes, por tempo prolongado (90 a 120 dias) e submetidos a avaliações hematológicas, demonstraram que são necessários níveis de proteína bruta mais elevados na ração para manter o hematócrito desses animais em níveis adequados para sua saúde em cativeiro (Yoshioka et al. 2017). Em outro estudo com filhotes de tracajá

alimentados com diferentes níveis de proteína na ração comercial para peixes, os autores observaram que 36% é o percentual de proteína ideal para a alimentação de filhotes em cativeiro, baseando-se nos resultados encontrados para as concentrações de glicose, triglicérides, colesterol e ureia dos animais. Os autores ainda observaram que níveis proteicos de 45 e 55% de PB elevaram as concentrações de produtos nitrogenados na água, confirmando a maior taxa de excreção de ureia e, conseqüentemente, com perdas econômicas para o produtor (Yoshioka et al. 2015). Assim, devem ser utilizadas dietas com rações comerciais para peixes com níveis proteicos variando entre 28 e 40% na alimentação dos juvenis de tracajás, mas isso precisa ainda ser avaliado.

2. PROBLEMA

Qual a dieta comercial do tracajá *P. unifilis* em cativeiro, na fase juvenil, mantém estáveis os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais?

3. HIPÓTESE

Dietas comerciais com níveis maiores de proteína bruta garantem a manutenção da saúde de juvenis de tracajá (*P. unifilis*), de acordo com os valores de hematócrito, concentração de hemoglobina, CHCM, e concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina e glicose.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta fisiológica de juvenis de *P. unifilis* ao uso de rações comerciais com diferentes níveis de proteína bruta.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a resposta hematológica de juvenis de tracajás alimentados por 60, 120 e 180 dias com dietas comerciais contendo 28, 32, 36 e 40% de proteína bruta;
- Avaliar a resposta bioquímica de juvenis de tracajás alimentados por 60, 120 e 180 dias com dietas comerciais contendo 28, 32, 36 e 40% de proteína bruta;
- Determinar a melhor dieta comercial dentre os níveis de proteína bruta 28, 32, 36 e 40%, para o cultivo do tracajá na fase juvenil com base na resposta hematológica e bioquímica.

5. REFERÊNCIAS

- Almeida, C. G. de e A. S. Abe. 2009. Aproveitamento de alimentos de origem animal pela tartaruga-da-amazônia – *Podocnemis expansa* criada em cativeiro. *Acta Amazonica* **39** (1): 215 - 220.
- Altino, V. S. 2013. Digestibilidade de ingredientes energéticos e proteicos em dietas para tracajá (*Podocnemis unifilis*, Troschel 1848). Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) – Universidade Federal do Amazonas, 48p.
- Araújo, J. da C., E. S. Gadelha, M. das D. C. Palha e P. V. e Rosa. 2013a. Minerais e vitaminas para quelônios em cativeiro. *PUBVET* **7** (5): 1 - 22.
- Araújo, J. da C., M. das D. C. Palha e P. V. e Rosa. 2013b. Nutrição na quelonicultura – revisão. *Revista Eletrônica Nutritime* **10** (6): 2828 - 2871.
- Barrio-Amóros, C. L. e Í. Narbaiza. 2008. Turtles of the Venezuelan Estado Amazonas. *Radiata* **17** (1): 1 - 19.
- Brasil. Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967, que dispõe sobre a proteção à fauna e dá outras providências. Brasília: Presidência da República, 1967. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l5197.htm> Acesso em: 15 de fevereiro de 2018.
- Bulté, G., C. Verly e G. Bloin-Demers. 2006. An improved blood sampling technique for hatchling emydid turtles. *Herpetological Review* **37** (3): 318 - 319.
- Campbell, T. W. 2015a. Hematologia dos répteis. Páginas 594 - 637 *in*: M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison e T. W. Campbell, Editores. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Editora ROCA LTDA, São Paulo, Brasil.
- Campbell, T. W. 2015b. Bioquímica clínica dos répteis. Páginas 1267 - 1283 *in*: M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison e T. W. Campbell, Editores. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Editora ROCA LTDA, São Paulo, Brasil.
- Chen, X., C. Niu e L. Pu. 2007. Effects of stocking density on growth and non-specific immune responses in juvenile soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Aquaculture Research* **38**: 1380 - 1386.

- Duarte, J. A. M., F. S. Costa e P. C. M. Andrade. 2008. Revisão sobre as características das principais espécies de quelônios aquáticos amazônicos. Páginas 24 - 54 *in*: P. C. M. Andrade, Editores. Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Ibama/ProVárzea, Manaus, Brasil.
- Fonseca, L. A., N. L. Maia, F. M. Girardi, W. P. Carvalho Filho, F. G. Pimentel e F. R. Braga. 2016. Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos em tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) mantidas em cativeiro. Pesquisa veterinária Brasileira **36** (12): 1186 - 1189.
- Gaspar, A. e T. J. P. Silva. 2009. Composição nutricional da carne da tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) criada em cativeiro e em idade de abate. Revista do Instituto Adolfo Lutz **68** (3): 419 - 425.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Instrução Normativa do IBAMA N° 07, de 30 de abril de 2015, que institui e normatiza as categorias de uso e manejo de fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do Ibama, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 2015. Disponível em: < https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/faunasilvestre/2015_ibama_in_07_2015_autorizacao_uso_fauna_empresendimentos.pdf> Acesso em: 24 de janeiro de 2019.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Portaria n° 142/92, de 30 de dezembro de 1992, que dispõe sobre o controle das transações comerciais das espécies: Tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa*) e tracajá (*Podocnemis unifilis*). Brasília, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 1992. Disponível em:<<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/PT0142-301292.PDF>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2018.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Portaria n° 070/96, de 23 de agosto de 1996, que normatiza a comercialização de produtos e subprodutos das espécies de quelônios. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 1996. Disponível em:<<http://www.ibama.gov.br>>

gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/PT0 070- 230896.PDF>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2018.

- Malvasio, A., A. M. de Souza, F. de B. Molina e F. de A. Sampaio. 2003. Comportamento e preferência alimentar em *Podocnemis expansa* (Schweigger), *P. unifilis* (Tröschel) e *P. sextuberculata* (Cornalla) em cativeiro. *Revista Brasileira de Zoologia* **20** (1): 161 - 168.
- Marcon, J. L., M. G. da Silva, G. da S. Batista, R. de S. Farias e L. B. B. Monteiro. 2008. Fisiologia e bioquímica de quelônios e suas implicações para o manejo e a criação em cativeiro. Páginas 193 - 221 *in*: P. C. M. Andrade, Editores. *Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas*. 2. ed. Ibama/ProVárzea, Manaus, Brasil.
- Morselli, M. P. E., F. S. E. D. V. Faria, V. M. F. Ribeiro, M. N. S. Viana, A. F. Parente, L. J. Baginski, C. Jardim e D. B. V. Reis. 2016. Biometria e parâmetros hematológicos em tartarugas-da-amazônia de um criatório comercial de Rio Branco/AC. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **68** (6): 1548 - 1556.
- Nardini, G., S. Leopardi e M. Bielli. 2013. Clinical hematology in reptilian species. *Veterinary Clinics: Exotic Animal* **16**: 1 - 30.
- Nascimento, S. P. do, C. M. de Carvalho e R. E. S. Farias. 2012. Os quelônios de Roraima. *Biologia Geral e Experimental* **12** (1): 1 - 48.
- Oliveira-Júnior, A. A., M. Tavares-Dias e J. L. Marcon. 2009. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. *Research in Veterinary Science* **86**: 146 - 151.
- Portal, R. da R., M. A. S. Lima, V. L. F. Luz, Y. S. de L. Bataus e I. J. dos Reis. 2002. Espécies vegetais utilizadas na alimentação de *Podocnemis unifilis*, Tröschel 1948 (Reptilia, Testudinae, Pelomedusidae) na região do Pracuúba - Amapá - Brasil. *Ciência Animal Brasileira* **3** (1): 11-19.
- Pough, F. H., J. B. Heiser e W. N. Mcfarland. 1999. *A vida dos vertebrados*. Atheneu Editora, São Paulo, São Paulo, Brasil.

- Pough, F. H., C. M. Janis e J. B. Heiser. 2008. A vida dos vertebrados. Atheneu Editora, São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Ranzani-Paiva, M. J. T. e Â. T. Silva-Souza. Hematologia de peixes brasileiros. 2004. Páginas 89 - 120 *in*: M. J. T. Ranzani-Paiva, R. M. Takemoto e M. de L. A. P. Lizama, Editores. Sanidade de organismos aquáticos. Editora Varela, São Paulo, Brasil.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., S. B. de Pádua, M. Tavares-Dias e M. I. Egami. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Eduem, Maringá, Paraná, Brasil.
- Rodrigues, M. de J. J., E. da C. Cardoso, I. Hildenburgo, A. Cintra e W. C. Moreno. 2006. Cálcio e fósforo na dieta natural da tartaruga-da-Amazônia, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812). Comunicação Científica – CIVA 2006 (<http://www.civa2006.org>), 291 - 299.
- Sá, V. A., L. C. Quitanilha, G. E. Frenea, V. L. F. Luz, A. de L. R. Borja e P. C. Silva. 2004. Crescimento ponderal de filhotes de tartaruga gigante da Amazônia (*Podocnemis expansa*) submetidos a tratamento com ração isocalóricas contendo diferentes níveis de proteína bruta. Revista Brasileira de Zootecnia **33** (6): 2351 - 2358.
- Santos, A. L. Q., A. V. Mundim, L. T. Menezes, A. P. S. Kaminishi, T. G. Leonardo e L. R. Nascimento. 2011. Proteinograma sérico de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger - 1812) – Testudines, Podocnemididae. PUBVET **5** (16): Ed. 163, Art. 1104.
- Santos, A. L. Q., T. S. Malta, A. V. Mundim, J. R. F. Alves Júnior e S. F. M. Carvalho. 2005. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger – 1812) (Testudinata) mantidas em criatório comercial. Archives of Veterinary Science **10** (3): 1 - 8.
- Soini, P. 1996. Reproduccion, abundancia y situacion de quelônios acuaticos em la reserva nacional Pacaya-Samiria, Peru. Folia Amazonica **8** (1): 145 - 162.
- Tavares-Dias, M. 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. Páginas 11 - 30 *in*: M. Tavares-Dias e W. S. Mariano, Editores. Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. Editora Pedro e João, São Carlos, Brasil.

- Tavares-Dias, M., M. G. Silva, A. T. Oliveira, A. A. Oliveira-Júnior e J. L. Marcon. 2012. Propriedades do sangue de três espécies de quelônios do gênero *Podocnemis* de vida livre da Reserva Biológica do Abufari, baixo rio Purus, estado do Amazonas, Brasil. Páginas 195 - 220 in: Â. T. Silva-Souza, M. de L. A. P. Lizama e R. M. Takemoto, Editores. Patologia e sanidade de organismos aquáticos. Editora Massoni, Maringá, Brasil.
- Tavares-Dias, M., A. A. Oliveira-Júnior, M. G. Silva, J. L. Marcon e J. F. M. Barcellos. 2009. Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski Arhiv* 79 (6): 601 - 610.
- Viana, M. das N. S., I. P. Farias, R. C. dos Santos, M. I. Sampaio e L. A. dos S. Monjelo. 2008. Genética molecular das populações das espécies de quelônio do gênero *Podocnemis* da Amazônia: resultados preliminares. Páginas 174 - 192 in: P. C. M. Andrade, Editor. Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Ibama/ProVárzea, Manaus, Brasil.
- Yoshioka, E. T. O., R. de A. Costa, A. R. P. Brasiliense, A. S. Castelo e L. F. Damasceno. 2017. Avaliação fisiológica de filhotes de tracajás *Podocnemis unifilis* alimentandos com diferentes níveis de proteínas nas rações. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/ Embrapa Amapá* 98: 1 - 33.
- Yoshioka, E. T. O., R. de A. Costa, A. R. P. Brasiliense, A. S. Castro, A. C. D. Martins, B. M. P. da Silva e L. F. Damasceno. 2015. Perfil hematológico e bioquímico de filhotes de tracajás (*Podocnemis unifilis*) alimentados com níveis variados de proteína bruta. Páginas 31 - 44 in: M. Tavares-Dias e W. S. Mariano, Editores. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. Editora Pedro e João, São Carlos, Brasil.

6. ARTIGO CIENTÍFICO:

**RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE TRACAJÁ JUVENIS
ALIMENTADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA**

Submetido ao periódico "Acta Amazonica".

18/03/2019

ScholarOne Manuscripts



Navigation menu for Acta Amazonica. The menu is dark teal with white text. It includes a hamburger menu icon, the journal name 'Acta Amazonica', and three options: 'Home', 'Author' (highlighted in a lighter teal bar), and 'Review'.

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to
Acta Amazonica

Manuscript ID
AA-2019-0115

Title
Hematological and biochemical responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle fed different protein levels

Authors
Brasiliense, Alexandre
ALMEIDA, Paulo
Damasoeno, Leandro
Yoshioka, Eliane

Date Submitted
18-Mar-2019

[Author Dashboard](#)

Acta Amazonica

ACTA AMAZONICA

Hematological and biochemical responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle fed different protein levels

Journal:	<i>Acta Amazonica</i>
Manuscript ID	AA-2019-0115
Manuscript Type:	Original Article
Research Area:	Animal and Fisheries Sciences
Keyword:	turtle farming, hematology, biochemistry, <i>Podocnemis unifilis</i>

SCHOLARONE™
Manuscripts

Hematological and biochemical responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle fed different protein levels

Alexandre Renato Pinto BRASILIENSE^{1,3}, Paulo Eric Moreira de ALMEIDA^{2,3}, Leandro Fernandes DAMASCENO², Eliane Tie Oba YOSHIOKA^{1,3*}

¹Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – PPGGIO, Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Rod. Juscelino Kubitschek, Km 2, CEP 68.903-419. Jardim Marco Zero, Macapá, Amapá, Brasil.

²Faculdade de Macapá – FAMA, Rodovia Duca Serra, Km 5, CEP 68.906-801, Cabralzinho, Macapá, Amapá, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 5, nº 2600, Universidade, CEP 68903-419, Macapá, Amapá, Brasil.

*Corresponding author: eliane.yoshioka@embrapa.br

ABSTRACT

Turtle farming in Brazil is an expanding activity, but it still needs to be provided with technology to achieve farming success. Hence, the objective of the present study was to evaluate the physiological responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle, *Podocnemis unifilis*, to the use of commercial feeds with different crude protein (CP) levels during 180 days of farming. A number of 120 animals were divided into four experimental groups (three replications), according to the amount of protein provided in the feeds (28, 32, 36 e 40% CP). Feed bromatological composition and the hematological parameters and plasma biochemical parameters of yellow-spotted Amazon river turtles were analyzed after 60, 120, and 180 days of feeding. The ANOVA test was applied to the data, with respective post-tests according to the normality presented. Feed with 32% CP presented the highest composition of mineral

material, which may have contributed to the reduction of mean corpuscular hemoglobin concentration in the animals: this was therefore the least recommendable level. Feed with 36% CP provided stability regarding total protein concentrations in the yellow-spotted Amazon river turtle during the 180-day feeding period. Leukocyte respiratory activity (burst) of the animals increased, at the expense of energy expenditure. However, the animals that received feed with 40% CP presented stability regarding burst and plasma glucose concentration. Therefore, the use of feed with 36% CP could be recommended, since higher levels may increase the production cost.

KEYWORDS: turtle farming, hematology, biochemistry, *Podocnemis unifilis*.

Respostas hematológicas e bioquímicas de tracajá juvenis alimentados com diferentes níveis de proteína

RESUMO

A quelonicultura no Brasil é uma atividade em ascensão, mas que ainda necessita do desenvolvimento de tecnologias para o sucesso do cultivo. Nestes termos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas fisiológicas de juvenis de tracajá, *Podocnemis unifilis*, ao uso de rações comerciais com diferentes níveis de proteína bruta (PB) durante 180 dias de cultivo. Cento e vinte animais divididos em quatro grupos experimentais (três réplicas), de acordo com a quantidade de proteína ofertada na ração (28, 32, 36 e 40% de PB). Avaliou-se a composição bromatológica das rações, os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos dos tracajás após 60, 120 e 180 dias de alimentação. Aplicou-se ANOVA ($P < 0,05$) aos dados, com os respectivos pós-testes de acordo com sua normalidade. A ração com 32% de PB apresentou maior composição de material mineral, o que pode ter contribuído na redução da concentração de hemoglobina corpuscular média dos animais, mostrando ser o nível menos

recomendado. A ração com 36% de PB proporcionou estabilidade para as concentrações de proteínas totais dos tracajás durante os 180 de alimentação. A atividade respiratória dos leucócitos (burst) dos juvenis de tracajá sofreu elevações, com custo de energia. Entretanto, os animais que receberam ração com 40% de PB mostraram estabilidade para o burst e para a concentração plasmática de glicose. Assim, recomenda-se o uso de ração com 36% de PB, de forma a não onerar os custos de produção com o uso de níveis maiores.

PALAVRAS-CHAVE: quelonicultura, hematologia, bioquímica, *Podocnemis unifilis*.

INTRODUCTION

Turtles of the species *P. unifilis* (Tröschel 1848), known as the yellow-spotted Amazon river turtle, present good acceptance within Amazon cuisine, especially regarding consumption of this species' meat and eggs (Duarte *et al.* 2008). This species experiences intense exploitation by illegal traders (Almeida and Abe 2009; Araújo *et al.* 2013a) and is on the IUCN (International Union for Conservation of Nature) red list of threatened species (2016), on which it is classified as constantly vulnerable. Turtle farming in Brazil is an activity regulated through Normative Instruction 07/2015 issued by IBAMA, which determines guidelines for farming the following freshwater turtles: *Podocnemis expansa*, *P. unifilis*, *P. sextuberculata* and *Kinosternon scorpioides*.

Studies on feeding behavior, nutritional demands in captivity and the effects of feeds on turtle health are essential for developing turtle farming activities. However, there are still very many gaps, such as in relation to the nutritional demands of turtles of the genus *Podocnemis* (Portal *et al.* 2002; Rodrigues *et al.* 2006; Araújo *et al.* 2013a; Yoshioka *et al.* 2017) and adequate feeding for these animals in captivity (Sá *et al.* 2004; Rodrigues *et al.* 2006). Since technologies for turtle nutrition in captivity remain undefined, commercial balanced fish feed is considered to be the main source of protein and nutrients for this species (Portal *et al.* 2002;

Almeida and Abe 2009). Portal *et al.* (2002) stated that protein levels ranging from 28% to 30% crude protein (CP) were a good feeding alternative for yellow-spotted Amazon river turtles farmed in captivity. In a study on *P. expansa* exposed to isocaloric diets with various CP levels (18, 21, 24, 27 e 30% CP) in feed that was completely of vegetable origin, Sá *et al.* (2004) concluded that protein levels above 27% CP provided the best growth and weight gain responses in these animals, compared with lower levels.

Farming turtles in unhealthy captive environments, such as those that provide inappropriate diet, are not in line with these species' requirements or present high stock densities may cause metabolic diseases in reptiles (Campbell 2015b). Hematology as a method for diagnosing animal health conditions is well-accepted (Ranzani-Paiva and Silva-Souza 2004; Marcon *et al.* 2008; Tavares-Dias *et al.* 2009). Yoshioka *et al.* (2015; 2017) evaluated the physiological responses (hematology and biochemistry) of yellow-spotted Amazon river turtle fed with various CP levels (28, 36, 45, 55% CP) in commercial feed and recommended rations with 36% CP in this development phase. Hence, the objective of the present study was to evaluate the hematological and biochemical responses of juvenile yellow-spotted Amazon river turtle after fed commercial rations with various crude protein levels during 180 days of farming.

MATERIAL AND METHODS

The present study was conducted in accordance with an authorization issued by our institution's ethics committee for use of animals, under protocol number 006-CEUA/CPAFAP. This study was registered in the Brazilian national system for management of genetic heritage and associated traditional knowledge (SisGen), under protocol number A237945.

Specimens of yellow-spotted Amazon river turtle from the vivarium of Embrapa Amapá, weighing approximately 584.70 ± 49.60 g, were randomly separated into 12 experimental tanks, containing 10 animals each. These polyethylene tanks (capacity 500 liters,

L), were adapted to allow the animals to access both dry and wet areas. The wet areas received 300 L of water, thus maintaining a density of 33 individuals per cubic meter of tank volume. The tanks were cleaned and the water was changed every two days, except during the periods of physiological evaluations on the animals, when the maintenance was conducted differently in order to avoid influencing hematological and biochemical parameters of these juvenile yellow-spotted Amazon river turtles.

These turtles were acclimatized for 10 days, and the experimental period began in February 2017. The total duration of the experiment was 180 days, and the animals' physiological parameters were evaluated every 60 days of feeding, which was done using extruded commercial feed (which had been designed for omnivorous fish) with 28, 32, 36 and 40% CP, at a proportion of 3% of turtle biomass of each experimental tank. Each protein level in feeds was considered a treatment, and the animals in every three experimental tanks (replications) were fed with ration with the same protein level. Five animals in each experimental tank were used in a physiological evaluation, thus totaling 15 animals per group in each analysis.

Physicochemical composition analyses of the extruded commercial feeds used in the experiment were conducted by determining crude protein, ether extract, dry matter, ash and phosphorus contents. The feeds were ground up using an IKA portable analytical mill, model A11 basic, placed in plastic bags and sent to the Food Analysis Laboratory of Embrapa Amapá. Determinations were made in accordance with the following methodologies: crude protein (CP), determined using the Kjeldahl method ($N \times 6.25$), expressed as the percentage (Souza and Nogueira 2005; Instituto Adolfo Lutz 2008); ether extract (EE), determined using a Soxhlet extractor with petroleum ether under reflux for four hours, expressed as the percentage (Silva and Queiroz 2002; Souza and Nogueira 2005); dry matter (DM), determined using the gravimetric method in an oven at 105 °C until reaching constant weight, expressed as the

percentage (Silva and Queiroz 2002; Souza and Nogueira 2005); ash, determined using the gravimetric method in a muffle furnace at 105 °C for four hours, expressed as the percentage (Souza and Nogueira 2005; Instituto Adolfo Lutz 2008); and phosphorus (P), determined using complexometry, with absorbance measured at the wavelength of 725 nm using a Femto spectrophotometer, model CIRRUS 80MB, expressed in g kg^{-1} (Gomes and Oliveira 2011).

Blood samples were collected by caudal vessel puncture in each specimen of yellow-spotted Amazon river turtle, using disposable syringes and needles, and sodium heparin (Hepamax-S[®], 5.000 UI/mL) was used as anticoagulant. Hematocrit (Ht) was determined using the microhematocrit method, according to Goldenfarb *et al.* (1971). Total hemoglobin concentration (Hb) was determined by diluting total blood samples in Drabkin's reagent (Collier 1944), and absorbance was read in a spectrophotometer (Biospectro model SP-220) at wavelength of 540 nm, and expressed in g dL^{-1} . Erythrocyte (Ery) counting was conducted in accordance with the methodology described by Oliveira-Júnior *et al.* (2009), in a modified Neubauer chamber under an optical microscope (Edutec), and the count was expressed as the number of erythrocytes (Ery) per μL of blood. The following hematimetric indexes, mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), were calculated in accordance with the methodology described by Ranzani-Paiva *et al.* (2013). The determination of leukocyte respiratory activity (burst) was conducted in accordance with the methodology described by Biller-Takahashi *et al.* (2013), with spectrophotometer reading at the wavelength 540 nm.

The remainder of the blood sample from each specimen of yellow-spotted Amazon river turtle was centrifuged at 75 G (Centrifuge 5424, Eppendorf), in order to obtain plasma. Glucose, protein, albumin, triglycerides and cholesterol plasma concentrations using colorimetric kits (Labtest[®]) and absorbance readings in a spectrophotometer Biospectro (model SP-220), with

values expressed in mg dL^{-1} for glucose, triglycerides and cholesterol; and in g dL^{-1} for total protein and albumin.

The statistical analysis was conducted using the R Core Team 3.5.1 software (2018). The data from the bromatological analyses on the commercial feeds underwent normality (Shapiro-Wilks) and homogeneity of variance (Bartlett) tests, and the ANOVA test was applied. According to data normality and homoscedasticity, the Kruskal-Wallis and Tukey post-tests were applied for non-parametric and parametric data, respectively, with a probability of 5% ($p < 0.05$). On the other hand, the data obtained from the hematological and biochemical evaluations on the yellow-spotted Amazon river turtles were statistically compared among the groups that were fed with different protein levels in the feeds in the various evaluations, and among the different time periods over which each group was evaluated. Thus, tests on normality and homogeneity of variance were firstly applied and, when the data were non-parametric, they were subjected to Box-Cox mathematical corrections until homogeneity and homoscedasticity were reached. Subsequently, the ANOVA test was applied considering time and treatment as factors, with application of the Tukey post-test to ascertain which groups were different from each other, at a probability of 5% ($p < 0.05$).

RESULTS

The bromatological analyses on the commercial feed used in the experiment are shown in Table 1. The crude protein values in the feeds presented significant differences among all the feeds evaluated, and the highest mean value was presented by the feed with 40% CP, as expected. The feed with 32% CP presented ether extract, dry matter, ash and phosphorus contents that were significantly higher than those of the other feeds used. Dry matter and ash presented values that differed significantly among all the feeds used in the experiment, and the lowest mean values were presented by the feed with 36% CP.

The hematological analyses conducted on the yellow-spotted Amazon river turtles are shown in Table 2. The highest leukocyte respiratory activity (burst) was observed in the group that received feed with 28% CP, in relation to all other groups evaluated after 60 days of feeding. Yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 32% CP presented burst and MCV values that were significantly lower than those that received feed with 40% CP. The MCHC was significantly lower in the group that received feed with 32% CP than in the groups that received feed with 28 and 40% CP. Animals evaluated after 120 days of feeding presented higher hematocrit when they received feed with 32% CP in relation to those that received feed with 36% CP. The MCHC in the yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 32% CP was significantly lower than in the other treatments. In addition, Hb concentration was low when compared with the animals that received feed with 40% CP. The burst among the animals that received feeds with 32 and 36% CP was significantly higher than among those that received feeds with 28 and 40% CP.

Hematocrit in the animals that received feed with 32% CP for 180 days was higher than in the group ($p < 0.05$) that received feed with 36% CP. Hb concentrations in the yellow-spotted Amazon river turtles that received feeds with 28 and 32% CP were significantly higher than those in the animals that received feed with 36% CP. The burst values of the animals that received feed with 40% CP were significantly lower than other experimental groups. The MCHC values of the group that received feed with 28% CP were significantly higher than those presented by the yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 32 and 36% CP.

Regarding to the effects of feeding periods with certain CP levels in feeds on the blood parameters of the yellow-spotted Amazon river turtles, significant reductions in burst levels over the course of the experiment period were observed in relation to all the feeds used. The MCV of the yellow-spotted Amazon river turtles group that received feed with 40% CP became significantly reduced after 120 and 180 days of the experiment, in relation to the initial

evaluation conducted after 60 days. However, the erythrocyte counts in the animals that were fed for 180 days with the feed with 40% CP were significantly higher than in the animals evaluated after 60 days of the experiment. The MCHC in the animals that received feed with 32% CP, evaluated after 180 days, was significantly higher than in evaluations after 120 days of the experiment.

The results from the biochemical analyses on the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed with commercial rations with various CP levels are shown in Table 3. The plasma glucose concentration in the animals that received feed with 28% CP was significantly lower than in the other groups of yellow-spotted Amazon river turtles evaluated after 60 days of feeding. The yellow-spotted Amazon river turtles fed 28% CP diet presented lower plasma albumin levels ($p < 0.05$) than those of the animals that received feed with 32 and 40% CP. In addition, the group that received feed with 36% CP presented significantly lower values than the one that received feed with 40% CP. The plasma cholesterol level in the yellow-spotted Amazon river turtles fed with 28% CP diet was lower ($p < 0.05$) than that of the other groups evaluated.

After 120 days of the experiment, the animals that received feed with 36% CP presented significantly higher triglyceride values than those of the group that received feed with 32% CP. After 180 days of feeding, plasma glucose levels of the yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 40% CP were significantly higher than those that received feed with 28 and 36% CP, and the levels in the turtles fed with 32% CP diet were higher than in the turtles that received feed with 28% CP. The albumin levels were higher ($p < 0.05$) in the animals that received feed with 28% CP, in relation to the other groups evaluated. The plasma triglyceride levels of the group that received feed with 36% CP were significantly higher than those other groups, and the group that received feed with 32% CP presented significantly lower values than those of the other groups. The plasma cholesterol concentration in the group that received feed

with 40% CP was higher ($p < 0.05$) than the other groups evaluated, while the group that received feed with 28% CP presented significantly lower concentration than the groups that received feed with 32% and 40% CP.

When only the group that received feed with 28% CP in the different experimental periods (60, 120 and 180 days) was analyzed, it was seen that the plasma glucose levels in the animals that were fed for 180 days were significantly lower than when evaluations were done after 60 and 120 days. The total protein levels in the animals after 60 days of feeding were higher ($p < 0.05$) than those in animals evaluated after 180 days. However, the albumin levels were significantly higher in the evaluation conducted after 180 days, in relation to the animals evaluated after 60 and 120 days. The cholesterol levels in the animals evaluated after 120 days of the experiment were higher ($p < 0.05$) than in those evaluated after 60 days of feeding. The glucose and triglyceride concentrations in the yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 32% CP, after 60 days of feeding, were significantly higher than those of the animals evaluated after 120 and 180 days.

The total protein and albumin levels in the animals evaluated after 60 days of the experiment were significantly higher than in the evaluations after 180 days. The plasma glucose levels in the animals that received feed with 36% CP, evaluated after 60 days, were higher than the levels in evaluations done after 120 and 180 days. The albumin concentration was lower ($p < 0.05$) in the yellow-spotted Amazon river turtles evaluated after 180 days than in those evaluated after 60 and 120 days. The triglyceride levels were higher after 180 days of receiving feed with 36% CP, compared with the yellow-spotted Amazon river turtles evaluated after 60 and 120 days of the experiment. The total plasma protein levels of the animals evaluated after 60 days of feeding were significantly higher than those animals evaluated after 180 days. The albumin and triglyceride levels in the animals that received feed with 40% CP, evaluated after 60 days of the experiment, presented significantly higher values in relation to the evaluations

conducted after 120 and 180 days. The cholesterol levels in the yellow-spotted Amazon river turtles evaluated after 180 days were significantly higher than in those evaluated after 60 and 120 days of the experiment.

DISCUSSION

The bromatological analysis showed lower crude protein values than those that were informed by the manufacturers, in samples of feeds with 36 and 40% CP. The feed with 32% CP used in the present study for the yellow-spotted Amazon river turtles presented significantly higher percentages of dry matter, ash and phosphorus than did the other commercial feeds (see Table 1). Almeida and Abe (2009) evaluated the digestibility of raw material of animal origin and observed that the digestibility of meat and bone flour was low because of the high amount of mineral material, such as calcium and phosphorus. This resulted in rapid transit of food through the digestive tract of baby giant Amazon river turtles. Thus, higher availability of mineral material in the feed with 32% CP may have contributed towards faster transit of food through the digestive tract of juvenile yellow-spotted Amazon river turtles, and thus may have influenced nutrient absorption among these animals.

The hematocrit of the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles evaluated in the present study did not indicate any significant difference between the feeds evaluated. The hematocrit values observed in the yellow-spotted Amazon river turtles, after 60 and 120 days of feeding, were higher than those found by Yoshioka *et al.* (2017) for baby turtles of the same species evaluated over the same period, albeit using feeds with other protein levels (28, 36, 45 and 55% CP). Tavares-Dias *et al.* (2012) evaluated three wild species of the genus *Podocnemis*, and the hematocrit values of juvenile and adult individuals of *P. unifilis* ($23.2 \pm 4.7\%$) that were observed were similar to those found in the present study. Oliveira-Júnior *et al.* (2009) evaluated specimens of *P. expansa* from a commercial farm that received aquatic macrophytes

and extruded fish flour containing 34% CP, and the mean hematocrit values ($25.1 \pm 6.9\%$) observed were similar to that was found in the present study. According to Campbell (2015a), most reptiles present normal hematocrit levels ranging from 20 to 40%. Evaluation of this parameter in turtles makes possible to determine viscosity and the proportion of solid elements circulating these animals' total blood, thus enabling measurement of the effort exerted by their heart for pumping blood (Marcon *et al.* 2008). Even though significant differences in hematocrit among the groups that received feed with various crude protein levels were observed in the evaluations conducted after 120 and 180 days, the hematocrit values in these juvenile yellow-spotted Amazon river turtles were within the reference values (Oliveira-Júnior *et al.* 2009; Tavares-Dias *et al.* 2012; Campbell 2015b).

Hemoglobin concentration in the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles presented significant alterations among the groups evaluated after 120 and 180 days of the experiment. Values similar to those of the present study were reported for the species *P. expansa* ($6.5 \pm 1.2 \text{ g dL}^{-1}$) (Oliveira-Júnior *et al.* 2009). In addition, wild juvenile and adult individuals of *P. unifilis* presented similar values ($7.0 \pm 1.6 \text{ g dL}^{-1}$), according to Tavares-Dias *et al.* (2012). On the other hand, malnourished giant Amazon river turtles presented low hemoglobin concentrations ($1.9 \pm 1.3 \text{ g dL}^{-1}$), as reported by Tavares-Dias *et al.* (2009). According to Campbell (2015a), hemoglobin concentrations in these reptiles are normal when they are in the range from 5.5 to 12 g dL^{-1} . Thus, the values found for these juvenile yellow-spotted Amazon river turtles that received diets containing CP levels were within the normal values found in the literature (Oliveira-Júnior *et al.* 2009; Tavares-Dias *et al.* 2012; Campbell 2015a).

The erythrocyte counts in the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles were similar ($0.18 \pm 0.08 \times 10^6 \mu\text{L}$) to the ones found for wild juvenile and adult specimens of *P. unifilis* (Tavares-Dias *et al.* 2012). However, the values were lower than reported by Oliveira-Júnior *et*

al. (2009) (0.25 to $0.30 \times 10^6 \mu\text{L}$) and Tavares-Dias *et al.* (2009) for another turtle species, *P. expansa* ($0.28 \pm 0.07 \times 10^6 \mu\text{L}$). Tavares-Dias *et al.* (2012) reported that *P. expansa* presented higher counts and lower volume of erythrocytes circulating in blood than did specimens of *P. unifilis*. The erythrocyte counts of the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles were not influenced by the diets with different protein levels, and the long feeding period favored the group that received feed with 40% CP. Thus, it can be understood that the erythrocyte counts in the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles in the present study were normal. The group that received feed with 40% CP presented a significant positive response regarding the erythrocyte counts found, between the evaluations conducted after 60 and 180 days of feeding.

Increases in leukocyte respiratory activity (burst) can be related as a stimulation of innate immunological system. The burst of the animals that received feed with 28% CP indicated high levels after 60 days of feeding. However, significant gradual reductions were shown by the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles until the end of the experimental period. On the other hand, the group that received feed with 40% CP presented the highest stability regarding burst values, over the course of the experiment period, thus leading to a significant reduction in the final evaluation (180 days). Among reptiles, leukocytes act in the way to maintain the integrity of tissues against antigens and infectious agents, in addition to being responsible for immunological balance of these animals (Marcon *et al.* 2008). Therefore, a possible existence of oxidative stress condition experienced by these turtles may have favored the high burst observed, since this is a mechanism for restoring the animals' immunological balance. According to Urbinati *et al.* (2015), among fish, the secondary response to stress may cause alterations to metabolic and cell function, with an initial improvement in the immunology of these animals. Biller-Takahashi *et al.* (2013) challenged the fish species *pacu* (*Piaractus mesopotamicus*) using *Aeromonas hydrophila*, and observed that this led to a significant increase in their burst, compared with the control group. There are no reference values for the

burst of turtles of the genus *Podocnemis*. However, this increase may frequently be associated with increased phagocytosis activity by leukocytes action or with maintenance of the immunological balance after stress.

The yellow-spotted Amazon river turtles of the present study presented MCV values that were higher than those that were found for healthy juvenile individuals of *P. expansa* (922.3 ± 150.2 fL) from a commercial farm fed with 34% CP (Oliveira-Júnior *et al.* 2009). Juvenile yellow-spotted Amazon river turtles showed means higher than values of *P. unifilis* that received diets with different crude protein levels (Yoshioka *et al.* 2017), thus corroborating the mean values found for wild juvenile and adult individuals of *P. unifilis* (1425.1 ± 448.3 fL) (Tavares-Dias *et al.* 2012). The MCV index enables assessment of animals' water or electrolytic balance (Marcon *et al.* 2008). Indeed, significant MCV reductions in turtles when these animals experience dehydration were observed (Marcon *et al.* 2008). However, for malnourished specimens of *P. expansa* this alteration was not observed, when compared with the control group (Tavares-Dias *et al.* 2009). It is important to highlight that *P. unifilis* presents larger erythrocytes than those of *P. expansa*. Moreover, the MCV values for juvenile and adult yellow-spotted Amazon river turtles are higher than those presented by baby turtles (Tavares-Dias *et al.* 2012). Thus, high mean MCV values can commonly be found in juvenile yellow-spotted Amazon river turtles, compared with baby turtles of this species and giant Amazon river turtles, indicating that the values found were within normality for yellow-spotted Amazon river turtles.

Significant differences in MCHC values were observed among the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles. Even the lowest mean values found in the present study were higher than the mean values found for malnourished individuals of *P. expansa* (10.0 ± 5.1 g dL⁻¹) (Tavares-Dias *et al.* 2009). MCHC analyses enables determination of the ratio between hemoglobin level and each cell volume could meaning iron deficiency, an important mineral for hemoglobin synthesis (Marcon *et al.* 2008). Animals that received feeds with 28 and 40%

CP presented, over the course of the 180 days of the experiment, constant values of MCHC. The yellow-spotted Amazon river turtles of the present study that received feeds with 28 and 40% CP presented lower MCHC values than those encountered among *P. unifilis*, fed with several crude protein levels in captivity (Yoshioka *et al.* 2015; 2017). Tavares-Dias *et al.* (2012) evaluated three species of the genus *Podocnemis* from the Abufari Biological Reserve, Purus River, state of Amazonas (AM), and observed that young and adult individuals of *P. unifilis* presented lower mean values for MCHC than did hatchlings. In addition, yellow-spotted Amazon river turtles presented higher MCHC than those found for specimens of *P. expansa*. Thus, MCHC presented by animals that received feeds with 28 and 40% CP over the course of the experimental period were satisfactory, while animals fed 32% CP showed lower values.

Juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed 32% CP commercial ration presented low and borderline values of MCHC compared with the data in the literature (Oliveira-Júnior *et al.* 2009; Tavares-Dias *et al.* 2009; Yoshioka *et al.* 2015; 2017), over the course of the experimental period, even though they presented the highest values for percentage hematocrit. Increases in hematocrit may reveal a condition of dehydration in animals (hemoconcentration) (Marcon *et al.* 2008; Campbell 2015a), while reductions in the values of MCHC may be related to anemic conditions in animals due to a lack of iron (Marcon *et al.* 2008). It is important to highlight that animals fed ration with 32% CP presented normal values for MCV, as established in the literature, and did not present any significant differences in relation to the other groups evaluated, which rules out the possibility that the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles might have been suffering from a condition of dehydration. Reductions in MCHC may be a negative result relating to food digestibility caused by the high composition of mineral material observed in the ration with 32% CP. This corroborates the results found by Almeida and Abe (2009) for giant Amazon river turtle. In these terms, the results also made it possible to conclude

that this is the least recommendable protein level for maintaining the MCHC in juvenile yellow-spotted Amazon river turtles.

The juvenile yellow-spotted Amazon river turtles evaluated in the present study showed lower mean values of plasma glucose than juvenile and adult individuals from the Abufari Biological Reserve (AM) ($149.9 \pm 66.5 \text{ mg dL}^{-1}$) (Tavares-Dias *et al.* 2012). In addition, values found in yellow-spotted Amazon river turtles were lower than those from giant Amazon river turtles, described for *P. expansa* (Santos *et al.* 2005; Oliveira-Júnior *et al.* 2009; Tavares-Dias *et al.* 2009). Thus, variations in the environment and in nutritional quality of food provided to animals may cause changes to the composition of plasma constituents, through blood biochemical analysis (Marcon *et al.* 2008). The group that received feed with 40% CP presented a reduction in blood glucose between the evaluations conducted after 60 and 120 days of the experiment. However, this group was the only one that recovered after 180 days, presenting a statistical equality with animals of this group that were evaluated after 60 days of feeding.

Reptile metabolic responses to stress may influence glucose consumption among these animals (Campbell 2015b). According to Santos *et al.* (2005), variations in biochemical constituents in giant Amazon river turtles that originate from stress during animal handling may be normal under the conditions of captivity. Chen *et al.* (2007) observed the effects of stock density on the non-specific immune system of juvenile individuals of *Pelodiscus sinensis* and noted that moderate stress stimulated the animals' innate immunological system. However, this leads to energy consumption, which corroborates to the results observed in the present study. The highest stability for leukocyte respiratory activity and plasma glucose concentrations was observed among animals that received feed with 40% CP. This allows a conclusion that reductions in glucose level related to the energy consumption of the non-specific immunological system, in order to reach immunological balance among these animals (Marcon *et al.* 2008), may negatively influence their growth (Chen *et al.* 2007).

The total plasma protein concentration is the main indicator of its nutritional condition (Morselli *et al.* 2016). For juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed with 28, 32, and 40% CP and, evaluated after 60 and 180 days, showed significant reductions between these evaluations. However, these values were higher than for *P. expansa* ($1.9 \pm 0.8 \text{ g dL}^{-1}$), found by Fonseca *et al.* (2016), farmed in captivity and fed with 28% CP. These values were lower than for *P. unifilis* that were fed with various crude protein levels in their diets (Yoshioka *et al.* 2015; 2017), and lower than the mean value found for wild juvenile and adult individuals of *P. unifilis* (Tavares-Dias *et al.* 2012). The plasma concentrations of total proteins in healthy reptiles generally range between 3 to 7 g dL^{-1} , according to Campbell (2015b). Mean values for total plasma protein concentration of below 3 g dL^{-1} were observed in the yellow-spotted Amazon river turtles that received feeds with 28 and 32% CP, evaluated after 120 days, and for all the diets of the animals evaluated after 180 days of the experiment. However, the yellow-spotted Amazon river turtles fed with 36% CP presented approximately constant total plasma protein values, without any significant differences regarding diets with various CP levels or regarding the different assessment periods. Therefore, the protein levels in this group were similar to what was described by Campbell (2015b).

The plasma albumin presented values that were within the interval 1.70 - 3.40 g dL^{-1} in the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed with 28 and 36% CP (evaluated after 60 days), in all the groups evaluated (after 120 days) and in the groups that received rations 32, 36, and 40% CP evaluated (after 180 days of the experiment). Santos *et al.* 2005 described for the species *P. expansa* (0 a 1.000 g) that was fed with a diet that consisted of a feed with 24% CP, complemented with fruits and vegetables. When juvenile yellow-spotted Amazon river turtles were fed rations with 32 and 40% CP (for 60 days) and, with 28% CP (for 180 days), they presented values that corroborated to a range (3,40 - 6,35 g dL^{-1}) similar to that was observed for *P. expansa*. These animals were fed with a diet with 24% CP, complemented with

fruits and vegetables, according to Santos *et al.* (2011). The juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed 28% CP ration presented a gradual increase in plasma albumin concentrations over the course of the experimental period, in contrast to other groups that showed reductions in the plasma concentrations of this parameter.

The triglyceride levels of the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles that were fed with diets with various crude protein levels were higher than reported for *P. expansa* by Oliveira-Júnior *et al.* (2009). In addition, those values were similar to *P. expansa* fed with 24% CP and, complemented with fruits and vegetables (Santos *et al.* 2005). However, the yellow-spotted Amazon river turtles fed with 32% CP, evaluated after 180 days, presented lower mean values for triglycerides than what was observed for the species *P. expansa* by Oliveira-Júnior *et al.* (2009), Santos *et al.* (2005) and Fonseca *et al.* (2016). For juvenile and adult individuals of the same species, *P. unifilis*, from the Abufari Biological Reserve (Purus River, AM), the triglyceride levels interval observed was 16.7 - 37.8 mg dL⁻¹ (Tavares-Dias *et al.* 2012), similar to yellow-spotted Amazon river turtles fed ration with 32% CP.

Cholesterol levels among the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles that received diets with various CP levels corroborated the range (45.2 to 176.4 mg dL⁻¹) for juvenile and adult individuals of *P. unifilis* from the Abufari Biological Reserve, Purus River (AM) (Tavares-Dias *et al.* 2012). Plasma cholesterol of yellow-spotted Amazon river turtles fed with 28% CP (evaluated after 60 and 180 days) was lower than described by Santos *et al.* (2005) and Tavares-Dias *et al.* (2012). The plasma cholesterol concentrations were proportional to the protein levels provided in the feed for the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles, since animals fed with 40% CP presented the highest mean values over the course of the experimental period, and showed a significant increase in the evaluation conducted after 180 days. However, the results for this group corroborated the variation found for wild individuals (Tavares-Dias *et al.* 2012) of the same species and for giant Amazon river turtles farmed in captivity (Santos *et*

al. 2005). According to Oliveira-Júnior *et al.* (2009), farmed turtles may present high concentrations of cholesterol, due to the artificial diet and the reduced amounts of movement, compared with wild animals. According to Santos *et al.* (2005), the range for *P. expansa* was 51.0 to 149.0 mg dL⁻¹, after fed with a diet composed of 24% CP and complemented with fruits and vegetables. However, Tavares-Dias *et al.* (2012) observed that yellow-spotted Amazon river turtles presented higher mean values for cholesterol concentration than those found for giant Amazon river turtles.

The hematological and biochemical profile of turtles of the genus *Podocnemis* varies according to their age group (baby, juvenile or adult turtles) (Tavares-Dias *et al.* 2012) and according to the nutritional condition of the animals (Marcon *et al.* 2008; Tavares-Dias *et al.* 2009). Evaluation of the hematological and biochemical parameters was an important tool for determining the health and nutritional condition of these turtles in captivity (Marcon *et al.* 2008; Tavares-Dias *et al.* 2009; Campbell 2015a). In addition, during the entire turtle farming process, these analyses should be used in order to measure the physiological responses of animals to measure the health condition of these turtles in captivity (Yoshioka *et al.* 2015).

CONCLUSION

The feed bromatological evaluation showed that there was high availability of mineral material in commercial ration with 32% CP, which may have contributed towards faster transit of food through the digestive tract of the juvenile yellow-spotted Amazon river turtles, thereby negatively influencing nutrient absorption. This ration was the least recommendable for maintaining the MCHC of these turtles. The yellow-spotted Amazon river turtles that received feed with 36% CP presented stability regarding total plasma protein concentration over the course of experimental period. In addition, the animals group that received feed with 40% CP presented a more constant burst. The plasma glucose levels were more constant in the animals

that received feed with 40% CP, which allows the conclusion that reductions in glucose levels are related to the energy consumption of the non-specific immunological system. In these terms, use of diets with 36% CP could be recommended for maintaining juvenile yellow-spotted Amazon river turtles in captivity, since the use of feeds with 40% CP could greatly increase production costs.

Acknowledgements

The authors thank the Postgraduate Program on Tropical Biodiversity (PPGBIO), Federal University of Amapá (UNIFAP); CAPES for providing the master's grant; Banco da Amazônia for financing the study; and, Brazilian Agricultural Research Corporation in Amapá (Embrapa Amapá), for structural and logistical support.

REFERENCES

- Almeida, C. G. de; Abe, A. S. 2009. Aproveitamento de alimentos de origem animal pela tartaruga-da-amazônia - *Podocnemis expansa* criada em cativeiro. *Acta Amazonica*, 39 (1): 215 - 220.
- Araújo, J. da C.; Gadelha, E. S.; Palha, M. das D. C.; Rosa, P. V. e. 2013a. Minerais e vitaminas para quelônios em cativeiro. *PUBVET*, 7 (5): 1 - 22.
- Araújo, J. da C.; Palha, M. das D. C.; Rosa, P. V. e. 2013b. Nutrição na quelonicultura – revisão. *Revista Eletrônica Nutritime*, 10 (6): 2828 - 2871.
- Biller-Takahashi, J. D.; Takahashi, L. S.; Saita, M. V.; Gimbo, R. Y.; Urbinati, E. C. 2013. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Brazilian Journal of Biology*, 73 (2): 425 - 429.
- Campbell, T. W. 2015a. Hematologia dos répteis. In: Thrall, M. A.; Weiser, G.; Allison, R. W.; Campbell, T. W.; (Ed). *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. Editora ROCA LTDA, São Paulo, Brasil, p. 594 - 637.

- Campbell, T. W. 2015b. Bioquímica clínica dos répteis. In: Thrall, M. A.; Weiser, G.; Allison, R. W.; Campbell, T. W.; (Ed). Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Editora ROCA LTDA, São Paulo, Brasil, p. 1267 - 1283.
- Chen, X.; Niu, C.; Pu, L. 2007. Effects of stocking density on growth and non-specific immune responses in juvenile soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Aquaculture Research*, 38: 1380 - 1386.
- Collier, H. B. 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50 (1): 550 - 552.
- Duarte, J. A. M.; Costa, F. S.; Andrade, P. C. M. 2008. Revisão sobre as características das principais espécies de quelônios aquáticos amazônicos. In: Andrade, P. C. M.; (Ed). Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. 2. ed. Ibama/ProVárzea, Manaus, Brasil, p. 24 - 54.
- Fonseca, L. A.; Maia, N. L.; Girardi, F. M.; Carvalho Filho, W. P.; Pimentel, F. G.; Braga, F. R. 2016. Avaliação de parâmetros bioquímicos séricos em tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) mantidas em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36 (12): 1186 - 1189.
- Goldenfarb, P. B.; Bowyer, F. P.; Hall, E.; Brosious, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56 (1): 35 - 39.
- Gomes, J. C.; Oliveira, G. F. 2011. Análise físico-químicas de alimentos. 1da ed. UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2011,303p.
- Instituto Adolfo Lutz. 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1da ed. Instituto Adolfo Lutz, (Versão Eletrônica), São Paulo, São Paulo, Brasil, 2008,1020p.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Instrução Normativa do IBAMA N° 07, de 30 de abril de 2015, que institui e normatiza as

- categorias de uso e manejo de fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do Ibama, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 2015. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/faunasilvestre/2015_ibama_in_07_2_015_autorizacao_uso_fauna_empresendimentos.pdf> Acesso em: 24 de janeiro de 2019.
- International Union for Conservation of Nature - IUCN. 2016. Tortoise & Freshwater Turtle Specialist Group. *Podocnemis unifilis* (errata version published in 2016). The IUCN Red List of Threatened Species 1996: e.T17825A97397562. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1996.RLTS.T17825A7506933.en>. Downloaded on 08 February 2019.
- Malvasio, A.; Souza, A. M. de; Molina, F. de B.; Sampaio, F. de A. 2003. Comportamento e preferência alimentar em *Podocnemis expansa* (Schweigger), *P. unifilis* (Tröschel) e *P. sextuberculata* (Cornalla) em cativeiro. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20 (1): 161 - 168.
- Marcon, J. L.; Silva, M. G. da; Batista, G. da S.; Farias, R. de S.; Monteiro, L. B. B. 2008. Fisiologia e bioquímica de quelônios e suas implicações para o manejo e a criação em cativeiro. In: Andrade, P. C. M.; (Ed). *Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas*. 2. ed. Ibama/ProVárzea, Manaus, Brasil, p. 193 - 221.
- Morselli, M. P. E.; Farias, F. S. E. D. V.; Ribeiro, V. M. F.; Viana, M. N. S.; Parente, A. F.; Baginski, L. J.; Jardim, C.; Reis, D. B. V. 2016. Biometria e parâmetros hematológicos em tartarugas-da-amazônia de um criatório comercial de Rio Branco/AC. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68 (6): 1548 - 1556.
- Oliveira-Júnior, A. A.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. 2009. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. *Research in Veterinary Science*, 86: 146 - 151.

- Portal, R. da R.; Lima, M. A. S.; Luz, V. L. F.; Bataus, Y. S. de L.; Reis, I. J. dos. 2002. Espécies vegetais utilizadas na alimentação de *Podocnemis unifilis*, Tröschel 1948 (Reptilia, Testudinae, Pelomedusidae) na região do Pracuúba - Amapá - Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 3 (1): 11-19.
- R Core Team 3.5.1. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Ranzani-Paiva, M. J. T.; Silva-Souza, Â. T. Hematologia de peixes brasileiros. 2004. In: Ranzani-Paiva, M. J. T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M. de L. A. P.; (Ed). Sanidade de organismos aquáticos. Editora Varela, São Paulo, Brasil, p. 89 - 120.
- Ranzani-Paiva, M. J. T.; Pádua, S. B. de; Tavares-Dias, M.; Egami, M. I. 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. 1da ed. Eduem, Maringá, Paraná, Brasil, 2013, 135 p.
- Rodrigues, M. de J. J.; Cardoso, E. da C.; Hildenburgo, I.; Cintra, A.; Moreno, W. C. 2006. Cálcio e fósforo na dieta natural da tartaruga-da-Amazônia, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812). *Comunicação Científica – CIVA 2006* (<http://www.civa2006.org>), 291 - 299.
- Sá, V. A.; Quitanilha, L. C.; Frenea, G. E.; Luz, V. L. F.; Borja, A. de L. R.; Silva, P. C. 2004. Crescimento ponderal de filhotes de tartaruga gigante da Amazônia (*Podocnemis expansa*) submetidos a tratamento com ração isocalóricas contendo diferentes níveis de proteína bruta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33 (6): 2351 - 2358.
- Santos, A. L. Q.; Malta, T. S.; Mundim, A. V.; Alves Júnior, J. R. F.; Carvalho, S. F. M. 2005. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*, Schweigger – 1812) (Testudinata) mantidas em criatório comercial. *Archives of Veterinary Science*, 10 (3): 1 - 8.
- Santos, A. L. Q.; Mundim, A. V.; Menezes, L. T.; Kaminishi, A. P. S.; Leonardo, T. G.; Nascimento, L. R. 2011. Proteinograma sérico de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis*

- expansa*, Schweigger - 1812) – Testudines, Podocnemididae. *PUBVET*, 5 (16): Ed. 163, Art. 1104.
- Silva, D. J.; Queiroz, A. C. 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3da ed. UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2002, 235p.
- Souza, G. B.; Nogueira, A. R. A. 2005. Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. 1da ed. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, São Paulo, Brasil, 2005, 334p.
- Tavares-Dias, M.; Oliveira-Júnior, A. A.; Silva, M. G.; Marcon, J. L.; Barcellos, J. F. M. 2009. Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski Arhiv*, 79 (6): 601 - 610.
- Tavares-Dias, M.; Silva, M. G.; Oliveira, A. T.; Oliveira-Júnior, A. A.; Marcon, J. L. 2012. Propriedades do sangue de três espécies de quelônios do gênero *Podocnemis* de vida livre da Reserva Biológica do Abufari, baixo rio Purus, estado do Amazonas, Brasil. In: Silva-Souza, Â. T.; Lizama, M. de L. A. P.; Takemoto, R. M.; (Ed). Patologia e sanidade de organismos aquáticos. Editora Massoni, Maringá, Brasil, p. 195 - 220.
- Yoshioka, E. T. O.; Costa, R. de A.; Brasiliense, A. R. P.; Castelo, A. S.; Damasceno, L. F. 2017. Avaliação fisiológica de filhotes de tracajás *Podocnemis unifilis* alimentados com diferentes níveis de proteínas nas rações. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/ Embrapa Amapá*, 98: 1 - 33.
- Yoshioka, E. T. O.; Costa, R. de A.; Brasiliense, A. R. P.; Castelo, A. S.; Martins, A. C. D.; Silva, B. M. P. da; Damasceno, L. F. 2015. Perfil hematológico e bioquímico de filhotes de tracajás (*Podocnemis unifilis*) alimentados com níveis variados de proteína bruta. In: Tavares-Dias, M.; Mariano, W. S.; (Ed). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. Editora Pedro e João, São Carlos, Brasil, p. 31 - 44.

Table 1. Crude protein (CP), ether extract (EE), dry matter (DM), ash and phosphorus (P) of commercial feeds made using different percentages of protein used for feeding juvenile yellow-spotted Amazon river turtles.

	28% CP	32% CP	36% CP	40% CP
CP (DM %)	29.60 ± 0.44d	32.04 ± 0.44c	35.22 ± 0.48b	39.31 ± 0.66a
EE (DM %)	4.37 ± 0.66b	6.21 ± 0.28a	4.10 ± 0.45b	4.84 ± 0.10ab
DM (%)	91.25 ± 0.19b	91.99 ± 0.08a	90.70 ± 0.26c	91.31 ± 0.13b
Ash (DM%)	13.35 ± 0.19b	14.89 ± 0.17a	10.81 ± 0.11d	11.17 ± 0.04c
P (DM g kg ⁻¹)	6.30 ± 0.30c	9.00 ± 0.20a	6.20 ± 0.10c	8.00 ± 0.20b

Different lower-case letters on the same line indicate a statistically significant difference between feeds ($p < 0.05$, Tukey-Kramer or Kruskal-Wallis test).

Table 2. Hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb) concentration, erythrocyte count (Ery), leukocyte respiratory activity (burst), mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) (mean ± standard deviation) of juvenile yellow-spotted Amazon river turtles that received feeds with different protein levels (28, 32, 36 and 40% CP), evaluated every 60 days until the end of the 180-day experimental period.

Treatments	28% CP	32% CP	36% CP	40% CP
60-day experimental analyses				
Ht (%)	23.57 ± 2.10aA	24.07 ± 3.09aA	24.16 ± 3.01aA	24.00 ± 2.66aA
Hb (g dL ⁻¹)	7.89 ± 1.93aA	6.58 ± 0.77aA	6.75 ± 1.68aA	7.70 ± 1.00aA
Ery (x 10 ³ μL)	161.67 ± 36.58aA	195.00 ± 47.88aA	160.67 ± 40.88aA	157.50 ± 34.63aB
Burst (OD)	0.620 ± 0.18aA	0.245 ± 0.04cB	0.299 ± 0.06bcB	0.354 ± 0.08bA
MCV (fL)	1458.25 ± 303.90abA	1221.07 ± 263.13bA	1497.70 ± 213.92abA	1625.20 ± 382.23aA
MCHC (g dL ⁻¹)	32.54 ± 6.21aA	27.49 ± 2.49bAB	29.35 ± 2.48abAB	32.19 ± 4.00aA
120-day experimental analyses				
Ht (%)	24.07 ± 2.75abA	27.83 ± 5.73aA	22.29 ± 4.18bA	24.83 ± 4.45abA
Hb (g dL ⁻¹)	7.40 ± 1.08abA	6.81 ± 1.07bA	7.42 ± 1.79abA	8.77 ± 1.97aA
Ery (x 10 ³ μL)	185.36 ± 35.49aA	192.14 ± 42.05aA	160.00 ± 35.63aA	201.33 ± 48.53aAB
Burst (OD)	0.447 ± 0.07bB	0.624 ± 0.1aA	0.609 ± 0.06aA	0.379 ± 0.06bA
MCV (fL)	1331.07 ± 231.76aA	1428.08 ± 292.77aA	1429.70 ± 251.77aA	1266.79 ± 224.43aB
MCHC (g dL ⁻¹)	30.43 ± 1.93aA	24.80 ± 2.80bB	32.26 ± 3.32aA	34.68 ± 2.55aA
180-day experimental analyses				
Ht (%)	25.07 ± 2.85abA	26.50 ± 2.08aA	22.21 ± 1.72bA	23.64 ± 3.09abA
Hb (g dL ⁻¹)	8.51 ± 1.14aA	7.75 ± 1.22aA	6.13 ± 0.87bA	7.21 ± 0.91abA
Ery (x 10 ³ μL)	213.89 ± 51.77aA	228.93 ± 40.72aA	182.67 ± 44.19aA	227.50 ± 43.88aA
Burst (OD)	0.285 ± 0.06aC	0.276 ± 0.07aB	0.270 ± 0.06aB	0.125 ± 0.03bB
MCV (fL)	1227.68 ± 300.16aA	1127.65 ± 172.63aA	1256.46 ± 280.81aA	1141.28 ± 208.49aB
MCHC (g dL ⁻¹)	34.00 ± 3.25aA	28.88 ± 4.07bA	28.05 ± 3.30bB	30.40 ± 1.22abA

Different lower-case letters on the same line indicate a statistically significant difference over the same period of time ($p < 0.05$, through the Tukey-Kramer test). Different upper-case letters in the same column for the same parameter indicate a statistically significant difference between periods within the same treatment ($p < 0.05$, through the Tukey-Kramer test).

Table 3. Glucose, protein, albumin, triglyceride and plasma cholesterol concentrations (mean \pm standard deviation) of juvenile yellow-spotted Amazon river turtles fed commercial feed with different protein levels (28, 32, 36 and 40% CP), evaluated every 60 days until the end of the 180-day experimental period.

<i>Treatments</i>	<i>28% CP</i>	<i>32% CP</i>	<i>36% CP</i>	<i>40% CP</i>
<i>60-day experimental analyses</i>				
<i>Glucose (mg dL⁻¹)</i>	44.49 \pm 7.71bA	65.85 \pm 16.83aA	69.60 \pm 17.16aA	60.19 \pm 15.27abA
<i>Protein (g dL⁻¹)</i>	3.50 \pm 0.71aA	3.49 \pm 0.40aA	3.45 \pm 0.66aA	3.43 \pm 0.91aA
<i>Albumin (g dL⁻¹)</i>	2.46 \pm 0.45cB	3.46 \pm 0.88abA	3.06 \pm 0.54bcA	3.94 \pm 0.88aA
<i>Triglyceride (mg dL⁻¹)</i>	56.45 \pm 17.31aA	75.75 \pm 24.26aA	68.76 \pm 33.53aB	88.65 \pm 28.07aA
<i>Cholesterol (mg dL⁻¹)</i>	29.45 \pm 7.60bB	75.44 \pm 18.98aA	85.25 \pm 21.49aA	88.86 \pm 20.46aB
<i>120-day experimental analyses</i>				
<i>Glucose (mg dL⁻¹)</i>	43.71 \pm 8.96aA	37.62 \pm 6.25aB	35.16 \pm 6.85aB	40.52 \pm 9.35aB
<i>Protein (g dL⁻¹)</i>	2.97 \pm 0.51aAB	3.18 \pm 0.55aAB	2.82 \pm 0.66aA	3.39 \pm 0.76aAB
<i>Albumin (g dL⁻¹)</i>	2.87 \pm 0.63aB	2.73 \pm 0.46aAB	3.14 \pm 0.65aA	2.35 \pm 0.52aB
<i>Triglyceride (mg dL⁻¹)</i>	42.41 \pm 11.58abA	35.50 \pm 9.93bB	69.52 \pm 30.77aB	45.95 \pm 17.61abB
<i>Cholesterol (mg dL⁻¹)</i>	57.96 \pm 12.89aA	61.50 \pm 10.89aA	81.01 \pm 18.62aA	81.37 \pm 14.97aB
<i>180-day experimental analyses</i>				
<i>Glucose (mg dL⁻¹)</i>	26.67 \pm 6.59cB	42.81 \pm 10.09abB	33.29 \pm 8.62bcB	48.49 \pm 9.85aAB
<i>Protein (g dL⁻¹)</i>	2.42 \pm 0.49aB	2.38 \pm 0.80aB	2.63 \pm 0.37aA	2.49 \pm 0.52aB
<i>Albumin (g dL⁻¹)</i>	3.60 \pm 0.77aA	2.33 \pm 0.60bB	2.03 \pm 0.60bB	1.53 \pm 0.61bB
<i>Triglyceride (mg dL⁻¹)</i>	49.78 \pm 34.64bA	17.04 \pm 8.10cB	147.15 \pm 21.34aA	47.49 \pm 25.92bB
<i>Cholesterol (mg dL⁻¹)</i>	49.60 \pm 24.34cAB	80.17 \pm 15.71bA	62.35 \pm 19.50bcA	139.52 \pm 21.74aA

Different lower-case letters on the same line indicate a statistically significant difference over the same period of time ($p < 0.05$, through the Tukey-Kramer test). Different upper-case letters in the same column for the same parameter indicate a statistically significant difference between periods within the same treatment ($p < 0.05$, through the Tukey-Kramer test).

7. CONCLUSÕES

A maior disponibilidade de material mineral presente na ração com 32% de PB pode ter acelerado o trânsito do alimento pelo trato gastrointestinal de juvenis de tracajás e comprometido sua digestibilidade, e influenciado negativamente as respostas bioquímicas dos animais. O uso da ração comercial com 28% de PB reduziu os níveis plasmáticos de proteínas totais e glicêmicos dos juvenis de tracajá, o que pode comprometer o estado de saúde dos animais quando alimentados por longos períodos.

Os resultados demonstraram que a ração de 40% de PB pode ser fornecida aos juvenis de tracajá. No entanto, níveis mais altos de proteína podem onerar a produção para o criador de quelônios, o que pode tornar inviável a atividade de cultivo. A ração comercial com 36% de PB gerou estabilidade dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, principalmente, das concentrações plasmáticas de proteínas totais e colesterol que são indicadores do estado nutricional em quelônios. Assim, pode-se recomendar o uso de ração comercial com composição similar à utilizada no presente estudo, com 36% de PB, na alimentação de juvenis de tracajás para o melhor custo benefício durante o cultivo.

Recomenda-se a realização de estudos para avaliar as respostas hematológicas e bioquímicas do tracajá após alimentação com dietas com diferentes níveis proteicos, entretanto, utilizando rações elaboradas com balanceamento dos nutrientes específicos para a espécie de quelônio e avaliação do efeito de outros níveis de proteína na dieta.



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical -PPGBIO
Mestrado e Doutorado
UNIFAP / EMBRAPA-AP / IEPA / CI -BRASIL



Macapá (AP), 16 de abril de 2019.

Para: Dr. José Júlio de Toledo - Coordenador do PPGBIO/UNIFAP
Ref.: dissertação final do mestre Alexandre Renato Pinto Brasiliense

Prezado Coordenador,

Venho através desta encaminhar a versão final da dissertação do mestre Alexandre Renato Pinto Brasiliense, e informar que estou ciente e de acordo com as alterações realizadas pelo aluno, acatando sugestões da banca.

A defesa desta dissertação foi realizada no dia 26 de março de 2019, com a seguinte banca examinadora: Prof. Dr. Marcos Tavares Dias e Dra. Jamile da Costa Araújo, ambos pesquisadores da Embrapa Amapá.

Agradeço cordialmente todos os serviços prestados até o momento pelo Programa e coloco-me à disposição para esclarecimentos, caso sejam necessários.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka
Pesquisadora Embrapa Amapá