

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**GABRIELLE MELLO LOPES**

**INDICADORES HEMATOLÓGICOS EM CÁGADOS DO CÓRREGO FELIZARDO  
NO MUNICÍPIO DE URUGUAINA-RS**

**Uruguaiana-RS  
2016**

**GABRIELLE MELLO LOPES**

**INDICADORES HEMATOLÓGICOS EM CÁGADOS DO CÓRREGO FELIZARDO  
NO MUNICÍPIO DE URUGUAINA-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientador: Alessandra Sayuri Kikuchi  
Tamajusuku Neis

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Aquio  
Hoshiba

**Uruguaiana-RS  
2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos  
Pelo (a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do  
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

L864i Lopes, Gabrielle  
INDICADORES HEMATOLÓGICOS EM QUELÔNIOS DO CÓRREGO  
FELIZARDO NO MUNICÍPIO DE URUGUAINA-RS / Gabrielle Lopes.  
40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)--  
Universidade Federal do Pampa, AQUICULTURA, 2016.  
"Orientação: Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis  
Neis ".

1. Parâmetros Hematológicos. 2. Quelônios. 3. Ambiente.  
I. Título.

GABRIELLE MELLO LOPES

**INDICADORES HEMATOLÓGICOS EM CÁGADOS DO CÓRREGO  
FELIZARDO NO MUNICÍPIO DE URUGUAINA-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso Superior de  
tecnologia em Aquicultura da  
Universidade Federal do Pampa,  
como requisito parcial para obtenção  
do Título de Tecnólogo em  
Aquicultura.

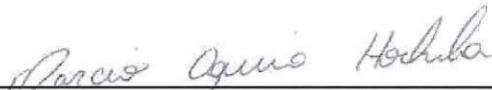
Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 13 de dezembro  
de 2016.

Banca examinadora:



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis  
Orientadora  
(UNIPAMPA)



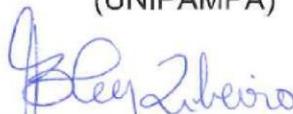
---

Prof. Dr. Márcio Aquio Hoshiba  
(UFMT)



---

Prof. Dr. Marcus Vinicius Morini Querol  
(UNIPAMPA)



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Bley Ribeiro  
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho aos amores da  
minha vida, Isadora e Henri, meus  
sobrinhos, amo vocês!

## AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus e a mim, por Deus ter me dado saúde e força para superar as dificuldades, e pela minha dedicação e determinação.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Neis, por ter aceitado ser minha orientadora e me ajudar e apoiar em todo o processo acadêmico e principalmente no Tcc, muito obrigado por ter acreditado que iria dar certo.

Ao Prof. Dr. Márcio Hoshiba, por ter me ajudado e apoiado na escolha do tema e depois mesmo de longe me ajudando muito em toda elaboração do Tcc e na parte do experimento também.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Bley por ter aceitado a me ajudar e me ensinar toda a parte de microbiologia, muito obrigado.

A Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Simone Pinton em me emprestou seu laboratório na hora que eu sempre precisei, até mesmo quando não marcava hora, sempre disposta a me ajudar, muito obrigado.

A minha família, mãe, obrigado por tudo, se não fosse você não teria feito a graduação, aos meus irmãos Renan e Jéssica, aos meus sobrinhos, Isadora e Henri, e ao meu amor Guilherme, obrigado por ter me aguentado esses quatro anos da graduação, e principalmente nesses últimos meses, pela paciência e ajuda de sempre.

Aos professores e técnicos do meu curso, Agradeço por me proporcionarem o conhecimento.

Agradeço a minhas equipes do Tcc, a equipe das coletas das tartarugas: Jardel, João Burdulis, Hiago, Dérick e Daniel, muito obrigada por acordar cedo no frio e entrar na água atrás das fujonas tartarugas ninjas, ao Diogo por ter cuidado delas no CTPA para mim.

A equipe de coleta do sangue e análises: Eduarda, Pamela, Bruno e Rosane, sem vocês não tinha conseguido nem a metade de tudo que foi feito. Muito Obrigado.

A todos os colegas de curso, e amigos que eu fiz na faculdade e que me ajudaram diretamente ou indiretamente em toda graduação, vou levar vocês por resto da vida: Andreza, Bruno, Cinthia, Danelize, Dérick, Daniel, Eduarda, Hiago, Edryeise, Jonathan, Leonardo, Pamela, Suzy, Veri, Victor.

E a todos que fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos”.

Friedrich Nietzsche

## RESUMO

Estudos com quelônios, no Brasil, ainda são incipientes, faltam informações que relatem os hábitos dos quelônios, como reprodução, alimentação e padrões de atividade fisiológicas. Apesar de sua ampla extensão territorial, são raras as informações sobre a distribuição e mapeamento de tartarugas de água doce, principalmente, quando consideramos a ameaça de desaparecimento dos ecossistemas brasileiros, com o acelerado aumento da poluição de nossos rios e a deterioração dos ambientes naturais. Nesse sentido, estudos relacionados às suas características biológicas, principalmente hematológicas, são importantes para o diagnóstico do estado de saúde desses animais na natureza sem a necessidade de eutanásia. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi analisar as condições fisiológicas e ambientais de tartarugas de água doce coletadas no córrego Felizardo, localizado ao lado do campus da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) no município de Uruguaiana-RS, verificando quais espécies ocorrem na região e seus parâmetros hematológicos. Foram realizadas coletas em locais conhecidos pela ocorrência de tartarugas. Foram capturados 21 quelônios com rede de arrasto de 25 mm entre nós e com seringas heparinizadas foi retirado 1 mL de sangue transferido para tubos de plásticos com 10 µL de heparina 5000 UI, mantidos no gelo. O material biológico foi imediatamente levado ao laboratório de Aquarioria da UNIPAMPA onde o sangue foi processado para as análises de hematócrito, hemoglobina e dosagem de glicose plasmática. Duas amostras de água do mesmo local em dias diferentes foram recolhidas para análise de parâmetros microbiológicos (quantidade de coliformes totais e fecais) pelo método do número mais provável (NMP). Todos os quelônios eram da mesma espécie cágado-de-barbelas (*Phrynops hilarii*), sendo dezesseis fêmeas e cinco machos, com peso médio de 1,28 kg ± 0,08. Nas análises hematológicas, os resultados encontrados, em média, foram: Hematócrito 11,70%, Hemoglobina 9,60 g/dL e Glicose 58,88 mg/dL. Nos resultados da análise da água, o método NMP resultou em uma contagem de 350 e 170 coliformes totais/100 mL, a partir da combinação (5-3-3 e 5-4-4,) obtida na contagem dos tubos contendo caldo verde brilhante. Entretanto, a presença de *E. coli* não foi detectada, a partir do meio E.C, evidenciando a ausência de coliformes fecais nas amostras analisadas. Os valores encontrados neste estudo são os primeiros apresentados na região do Pampa Brasileiro. Não é possível afirmar que os animais aqui amostrados sejam considerados portadores de alterações hematológicas, mas também é audacioso afirmar que esses valores servem como padrão hematológico para a espécie na região do sul do Brasil, por haver necessidade de estudos mais amplos.

Palavras-Chave: Tartarugas, ambiente, saúde.

## ABSTRACT

Studies with freshwater turtles in Brazil are still incipient, lacking information about their habits, such as reproduction, feeding and activity patterns. Despite its wide territory, information on distribution and mapping of freshwater turtles are rare, especially considering the menace of disappearing from Brazilian ecosystems, with accelerated river pollution raise and deterioration of natural environment. In this sense, studies related to their biological characteristics, mainly hematological, are important for the diagnosis of these animal's health state in nature without the need of euthanasia. Thus, the objective of this study was to analyze physiological and environmental conditions of freshwater turtles collected in Felizardo stream, located next to the Federal University of Pampa (UNIPAMPA) campus, in the city of Uruguaiiana - RS, verifying which species occur in the region and their hematological parameters. Collections were made in location known for the occurrence of turtles. Twenty one freshwater turtles were collected using a 25 mm dragging net between knots and 1 mL of blood was extracted using heparinized syringes and then transferred to plastic tubes containing 30  $\mu$ L of heparin 5000 UI, kept in ice. Biological material was immediately brought to UNIPAMPA Aquariorfilia laboratory, where the blood was processed for hematocrit analysis, hemoglobin and plasmatic glucose levels. Two water samples from the same location on different days were collected for microbiological parameter analysis (ammount of total and fecal coliforms) by the most probable number method (MPN). All turtles were from the same species, cágado-de-barbelas (*Phrynops hilarii*), sixteen females and five males, average weight of 1.28 kg  $\pm$  0.083. Results found in hematological analysis were, in average: Hematocrit 11.70%, Hemoglobin 9.60 g/dL e Glucose 58.88 mg/dL. Concerning water analysis, MPN method resulted in a count of 350 and 170 total coliforms/100 mL, through the combination (5-3-3 and 5-4-4,) obtained from the count of tubes containing brilliant green broth. However, the presence of *E. coli* was not detected through EC medium, demonstrating the absence of fecal coliforms in the analyzed sample. The values found in this study are the first presented in the Brazilian pampa's region. It is not possible to affirm that the animals sampled here are considered as having hematological amendments, but it is also audacious to state that these values serve as the hematological standard for the species in the southern region of Brazil, because more studies are needed.

**Key-words:** Freshwater turtles, environment, health.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem Aérea do Córrego Felizardo/Uruguaiana.....	20
Figura 2 – Tubos das análises microbiológicas.....	23
Figura 3 – Tubos com caldo verde brilhante com formação de gás.....	29
Figura 4 – Tubos negativos para coliformes fecais ( <i>E.coli</i> ).....	29
Figura 5 – Cágado encontrado no córrego felizardo espécie <i>Phrynops hilarii</i> .....	30
Figura 6 – Peso médio $\pm$ erro padrão em kg dos quelônios encontrados no córrego .....	31
Figura 7 – Análises dos resultados do hematócrito com erro padrão.....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – NMP com limite de confiança de 95% para várias combinações de resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL).....	26
Tabela 2 – Contagem de coliformes totais e fecais através do método NMP.....	29
Tabela 3 – Resultados obtidos nas análises de Hemoglobina em cada grupo.... .....	34
Tabela 4 – Resultados obtidos nas análises de Glicose em cada grupo.....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

VCM - Volume Corpuscular Médio

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

CHCM - Concentração de Hemoglobina Média

Hb - Hemoglobina

CTPA - Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura

NMP - Número Mais Provável

EC - caldo *E.coli*

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Identificação das espécies.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2 Parâmetros hematológicos .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.1 Coleta sanguínea e biometria .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.2 Hematócrito .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.3 Hemoglobina .....</b>	<b>23</b>
<b>3.2.4 Glicose .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 Análise da água .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3.1 Teste presuntivo.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3.2 Teste Confirmativo.....</b>	<b>25</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>35</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é considerada uma atividade multidisciplinar, referente ao cultivo de diversos organismos aquáticos, incluídos neste contexto plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes, entre outros (OLIVEIRA, 2009), sendo a atividade de produção animal que mais cresce no mundo. A produção animal oriunda da aquicultura atingiu 52,5 milhões de toneladas em 2008. A contribuição da aquicultura para a produção total de peixes (pesca e aquicultura) cresceu de 34,5 % em 2006 para 36,9 % em 2008. A produção aquícola representou 45,7 % dos alimentos para consumo humano em 2008, contra 42,6 % em 2006 (FAO, 2010).

Os principais organismos cultivados na aquicultura brasileira são os peixes particularmente Tilápias, Tambaqui, cultivo de pirarucu (*Arapaima gigas*), o camarão branco (*Litopenaeus vannamei*), o mexilhão (*Perna perna*), macroalgas em água doce.

Dentro da aquicultura, uma das atividades que começa a receber destaque principalmente na região norte é a criação de quelônios. Os quelônios são répteis da ordem Testudinata (Linnaeus, 1758). A característica mais distintiva de grupo é a presença de uma carapaça córnea, formada pela expansão e união de algumas vértebras e das respectivas costelas, com placas córneas por cima. No Brasil, os representantes terrestres, dulciaquícolas e marinhos são conhecidos, respectivamente, pelos termos jabuti, cágado e tartarugas (FABRES et al., 2009). A venda ilegal de quelônios capturados na natureza ainda é excessivamente alta, principalmente no estado do Amazonas. A tartaruga e o tracajá são as espécies mais buscadas para a criação comercial. A criação de quelônios depende da retirada de milhares de filhotes dos tabuleiros protegidos pelo IBAMA. No estado do Amazonas existem aproximadamente 196 projetos de criação comercial de animais silvestres, em análise, junto ao IBAMA-AM (CANTO et al., 1999), sendo que já se encontram registrados 69 criadouros com cerca de 400.000 animais em cativeiro (ANDRADE et al., 2003).

Estudos com Quelônios no Brasil ainda são incipientes, principalmente quanto aos hábitos e manejos dos Quelônios, como reprodução, alimentação e padrões de atividade (SOUZA, 2004). Molina (1996) relata que essa falta de informações, pode estar atribuída a dificuldades nas coletas dos animais, ainda que

muitas espécies de quelônios mostrem certa adaptação e convivência aos ambientes modificados pelo ser humano. Nos ambientes naturais o impacto de poluição é cada vez maior e existe a necessidade de informações mais precisas sobre a história das populações que se adaptam aos ambientes naturais e aos ambientes urbanos. No Brasil, apesar da ampla extensão territorial, são poucas as informações sobre a distribuição de tartarugas, e seu mapeamento principalmente quando consideramos a ameaça de desaparecimento dos ecossistemas brasileiros, com o acelerado aumento da poluição de nossos rios e a deterioração dos ambientes naturais. Dessa forma, é fundamental a identificação de áreas que permitam o estabelecimento de planos para o monitoramento de populações para que as informações disponíveis sobre áreas de ocorrência de tartarugas possam ser usadas para o desenvolvimento de estratégias de manejo apropriados (SOUZA et al., 2000).

Atualmente no Brasil existem 34 espécies de quelônios descritas, sendo cinco marinhas, duas terrestres e 27 límnicas (IBAMA, 2003). No estado do Rio Grande do Sul, os quelônios são representados por seis espécies continentais (cinco de *Chelidae* e uma de *Emydidae*) e cinco marinhas (quatro *Cheloniidae* e uma *Dermochelyidae*), correspondendo a cerca de 30% das 36 espécies brasileiras (BÉRNILS, 2010). No entanto, os estudos existentes sobre os quelônios continentais do Rio Grande do Sul são provenientes de informações pontuais temporal e geograficamente, que contribuem para a composição de um mosaico sobre a história de vida e o estado de conservação desses répteis. A maioria dos estudos relatam a presença ou ausência desses animais em rios e lagos, e também sobre a biologia da espécie, entretanto estudos sobre a fisiologia aplicada às condições aos quais os animais vivem ainda são poucos. Estudos sobre indicadores fisiológicos dos quelônios é o que permite ter uma rápida ferramenta de diagnóstico que oferece muitas informações sobre o estado de saúde dos animais (TROIANO; SILVA, 1998) sem a necessidade de eutanásia. As avaliações dos parâmetros hematológicos de um animal retratam diretamente sua fisiologia cardiorrespiratória e em última análise, seu estado de saúde. O sangue tem a capacidade de transporte de gases, principalmente, de oxigênio e nutrientes, e também para eliminar resíduos metabólicos. Uma análise sanguínea completa é constituída por uma avaliação de uma variedade de parâmetros que nos permitem obter informações sobre o estado de saúde do animal, e que ajuda na identificação de patologias, particularmente aqueles relacionados com a volemia e infecções (GARCIA NAVARRO; PACHALY,

1994). Quando comparado com outros vertebrados, existe pouca informação disponível na literatura sobre a hematologia e os perfis de hemoglobina de répteis (GARCIA NAVARRO; PACHALY, 1994). O Brasil é um dos principais países do mundo com recursos hídricos, representando 11% dos recursos hídricos mundiais. Para um país com grande potencial hídrico, o que torna inaceitável o país ainda passar por problemas de escassez em algumas regiões, onde um dos principais aquíferos (guarani) tem boa parte de sua extensão em solos brasileiros. Entretanto, toda essa fartura hídrica é mal distribuída, tanto socialmente quanto geograficamente (REBOUÇAS, 1999). O Brasil apresenta doze regiões hidrográficas formadas por diversas bacias hidrográficas, donde estão localizados os principais rios do país: Amazonas, São Francisco, Tocantins, Araguaia, Parnaíba, Paraguai, Paraná, Uruguai, dentre outros. A água de um rio é usada para diferentes fins: agricultura, pecuária, piscicultura e principalmente para o consumo humano. Neste sentido são verificados vários impactos ambientais ao longo da bacia do rio Uruguai, como em destaque o lixo e a falta de saneamento básico (NAVARRO, 2013).

Por isso o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabeleceu uma resolução (20/89) que classifica a água em classes que pode ser utilizada: (Classes 1, 2, 3 e 4):

#### Classe 1

- a) Abastecimento doméstico, após tratamento simplificado;
- b) Proteção das comunidades aquáticas;
- c) Recreação de contato primário (natação, esqui-aquático e mergulho);
- d) Irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rente ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção da película;
- e) Criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

#### Classe 2

- a) Abastecimento doméstico, após tratamento convencional;
- b) Proteção das comunidades aquáticas;
- c) Recreação de contato primário;

- d) Irrigação de hortaliças e plantas frutíferas;
- e) Criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

#### Classe 3

- a) Abastecimento doméstico, após tratamento convencional;
- b) Irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) Dessedentação de animais.

#### Classe 4

- a) Navegação;
- b) Harmonia paisagística;
- c) Usos menos exigentes.

A água é uma preocupação mundial e à medida que a humanidade aumenta, com crescimento de aglomerações urbanas, ocorre uma deterioração da sua qualidade e modificação de sua composição natural, gerada pelo despejo de poluentes, pela proliferação de bactérias patogênicas, causando grandes impactos à saúde pública e ao ecossistema aquático (SILVA et al., 2008). Segundo Querol et al. (1997), as ações antrópicas sobre o rio Uruguai, tem sido cada vez mais significativa, tais como o derramamento de efluentes domésticos e industriais sem tratamento e o desmatamento da mata ciliar e a destruição dos arroios. Em função desta constatação, é importante desenvolver um monitoramento da qualidade da água, para que num futuro próximo, não corramos o risco de ter os arroios, córregos e o rio Uruguai, totalmente impactados. Segundo Santwell (1965 apud Silva, 2008), o grau de poluição de um ambiente aquático é possível de ser avaliado determinando o número de coliformes nele presentes, ferramenta útil para um estudo mais aprofundado da poluição existente nos cursos d'água.

Estudos sobre os animais que vivem em ambientes alterados é crucial, uma vez que a poluição feita pelo homem no ambiente é a principal razão para o declínio de populações de répteis e pode negativamente influenciar na saúde dos animais. A contaminação dos ambientes aquáticos é provocada principalmente pelo lançamento de águas residuárias domésticas e industriais sem tratamento prévio. No caso de

esgotos domésticos os principais contaminantes são a matéria orgânica, e organismos patogênicos, com destaque para vírus, bactérias e protozoários. Com relação aos esgotos industriais a contaminação, além da matéria orgânica, envolve também os metais pesados e compostos organossintéticos (VON SPERLING, 2005). Tais poluentes podem prejudicar a saúde dos animais aquáticos ou até mesmo causar diferenças na morfologia das células sanguíneas. Um exemplo seria a anemia, uma das doenças que podem ser detectadas em espécies que vivem em ambientes poluídos (GIBBONS et al., 2000). Zago et al. (2010) encontraram diferenças no diâmetro e na área total e nuclear de eritrócitos entre tartarugas de ambiente natural e urbano, indicando que o meio ambiente pode modular a morfologia celular. Os índices hematológicos da série vermelha: eritrócitos, hemoglobina, são considerados primários e indicam a capacidade de transporte de oxigênio através do sangue e da utilização do mesmo pelo organismo do animal (TROIANO; SILVA, 1998). Os índices hematimétricos como: Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Média (CHCM), indicam o estado osmorregulatório do animal (que está diretamente envolvido com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo) e a função respiratória (SOUZA, 2004). Na avaliação dos parâmetros hematológicos é necessário interpretar e analisar se as diferenças encontradas são significativas, pois fatores externos e internos podem interferir nos resultados (MEDEIROS, 2012). O hematócrito ou volume globular é o parâmetro utilizado para avaliar as hemácias presentes no sangue, pois ele se refere tanto ao número de glóbulos vermelhos quanto ao tamanho destes, sendo correspondente à relação entre o volume de eritrócitos e o volume total de sangue. Se o hematócrito estiver muito baixo o animal pode ter anemia e desnutrição; e se estiver muito alta pode ocorrer desidratação e doença pulmonar (TAVARES- DIAS et al., 2004). A hemoglobina (Hb) está presente nas células vermelhas (hemácias) do sangue, e é responsável pelo transporte de oxigênio dos órgãos captadores (pulmões ou brânquias) para os demais tecidos. Em geral, a hemoglobina de vertebrados, incluindo os répteis é uma proteína tetramérica de massa molecular de aproximadamente 64,5 KD, contendo duas cadeias de globinas de um tipo e duas de outro tipo (geralmente alfa e beta), cada uma delas associada a um grupo prostético, heme, onde o átomo de ferro encontra-se no estado ferroso ( $Fe^{2+}$ ). A hemoglobina, pigmento respiratório dos eritrócitos, tem por função transportar o  $O_2$  e parte do  $CO_2$  no sangue (COATES, 1975). A hemoglobina

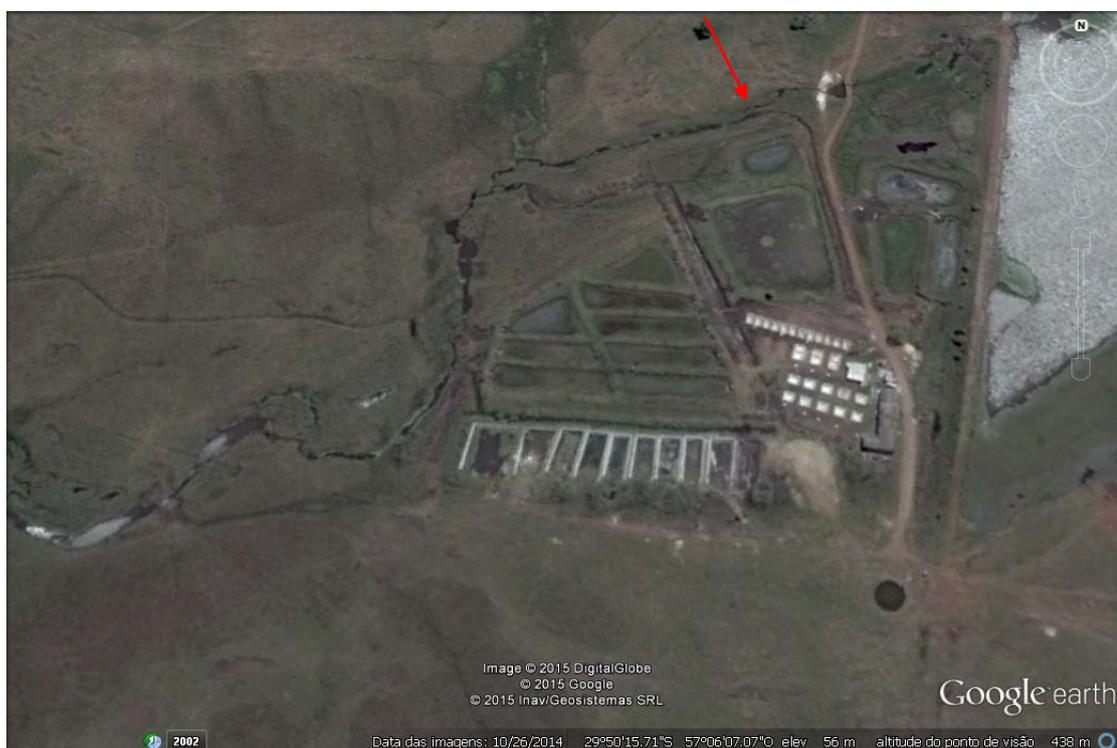
apresenta diferenças ainda em relação à sua capacidade de tamponamento e variações da afinidade pelo oxigênio. Enquanto, as atividades eritropoiéticas estão mais relacionadas ao número de eritrócitos, a concentração de Hb é indicadora da capacidade do transporte de oxigênio, e pode ser influenciada por hipóxia, exercício, estresse induzido, estágio reprodutivo e variações sazonais. O aumento na temperatura ambiental aumenta carência de oxigênio na água, que por sua vez estimula a eritropoiese (FERRAREZI, 2006).

A glicose é um carboidrato considerado como uma das principais fontes de energia. O pâncreas é o órgão responsável em produzir o hormônio denominado insulina, e que é o responsável por permitir a entrada da glicose em nossas células. Quando o pâncreas está comprometido, ocorre uma deficiência na produção de insulina o que altera a captação da glicose pelas células resultando no aumento da glicose no sangue. O controle do nível de glicemia é importante por diversas razões. O excessivo aumento da concentração de glicose no sangue, normalmente quando ultrapassa o limite de transporte máximo, provoca diurese osmótica levando à perda de glicose na urina, podendo resultar em depleção de líquidos e eletrólitos do corpo. Além disso, o aumento da glicemia e a hiperlipidemia em longo prazo pode causar lesões em tecidos e vasos sanguíneos incluindo infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência renal crônica e cegueira. A hipoglicemia é caracterizada por um nível anormalmente baixo de glicose no sangue, e em situações extremas pode levar à perda de consciência, ou a crises convulsivas, tontura, fome, dor de cabeça, cor da pele pálida e mudanças bruscas de humor ou comportamento, como choro sem motivo aparente em humanos, por exemplo. Outras situações além do metabolismo nutricional que alteram a glicemia no sangue é o estresse o organismo libera hormônios que podem alterar o nível glicêmico podendo causar uma crise de hiperglicemia. Animais em condições estressantes apresentam aumento de catecolaminas (resposta primária), induzindo mudanças nos parâmetros fisiológicos (resposta secundária), que comprometem seu desempenho (resposta terciária) e aumentam a suscetibilidade às doenças (GUYTON; HALL, 2000).

Portanto, o estudo dos parâmetros hematológicos de tartarugas de água doce torna-se importante, na medida em que se conhece quais são os valores padrão em ambientes controle e o quanto eles podem ser alterados em ambientes poluídos. O Córrego Felizardo do município de Uruguaiana-RS (Figura 1), apresenta-se como

uma fonte pouco explorada em relação a populações de quelônios. Um trecho do córrego passa por uma parte da Universidade Federal do Pampa-Uruguaiiana, onde os animais são bastante encontrados, onde aparentemente a água do córrego não está poluída, assim esse trabalho pretende contribuir para o conhecimento sobre populações de quelônios no Córrego Felizardo do município de Uruguaiiana-RS, e seus parâmetros hematológicos.

Figura 1. Imagem Aérea do Córrego Felizardo/Uruguaiiana. Fonte: Google Earth



## **2 OBJETIVO GERAL**

- Mensurar a condição fisiológica das tartarugas de água doce e sua relação com o ambiente.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar os parâmetros fisiológicos de tartarugas de água doce.  
Hematócrito, Hemoglobina, Glicose.
- Verificar a ocorrência de espécies de tartarugas de água doce encontrados no município de Uruguaiana-RS.
- Analisar os parâmetros microbiológicos (quantidade de coliformes totais e fecais) da água onde foram encontradas as tartarugas de água doce.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no córrego felizardo do município de Uruguaiana-RS, sendo a coleta realizada em dias diferentes, região do curso médio, localizado à sul 29° 50' 15.71" e oeste 57° 06'07.07".

#### **3.1 Identificação das espécies**

Foram realizadas quatro coletas em dias diferentes nos meses de junho a setembro, onde capturamos 21 animais no total com uma rede de arrasto de 25 mm entre nós, no córrego Felizardo, os animais foram levados ao Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura (CTPA). A coleta sanguínea foi realizada 48 horas após a captura para evitar interferência do estresse da captura nos parâmetros hematológicos. Depois da coleta sanguínea as tartarugas ficaram mais uma semana no cativeiro e depois devolvidas a natureza.

#### **3.2 Parâmetros hematológicos**

##### **3.2.1 Coleta sanguínea e biometria**

Foi coletado em uma seringa heparinizadas, 1 mL de sangue de cada animal que foi depositado em *ependorfs* heparinizados com 10 µL de heparina, a amostra foi condicionada em uma caixa de isopor com gelo em escamas para melhor conservação. Depois os animais foram submetidos a uma biometria para a verificação de peso, largura, comprimento total dos animais.

##### **3.2.2 Hematócrito**

Na centrifuga do Laboratório de Hematologia e Citologia Clínicas da Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana, foi determinado pelo método de micro hematócrito (VIVAS, 2013) as medidas foram realizadas em tubo capilar com 75 mm de comprimento e 1,0 mm de diâmetro interno e 1,5 mm externo.

### **3.2.3 Hemoglobina**

A concentração de hemoglobina foi determinada por método fotocolorimétrico, com utilização de kit comercial (marca Doles®). Depois da coleta, o sangue foi levado ao laboratório de Aquariorfilia do campus Uruguaiana, onde foi realizado o procedimento para analisar a hemoglobina, em triplicata, segundo as recomendações do fabricante. Brevemente, tubos de ensaio contendo 5 mL do reagente de cor da hemoglobina com 20 µL de sangue em cada tubo foram homogeneizados e levados ao espectrofotômetro para a leitura da absorvância no comprimento de onda de 540 nm. A água destilada foi utilizada como branco e 500 µL de hemoglobina (cianeto de potássio) como padrão.

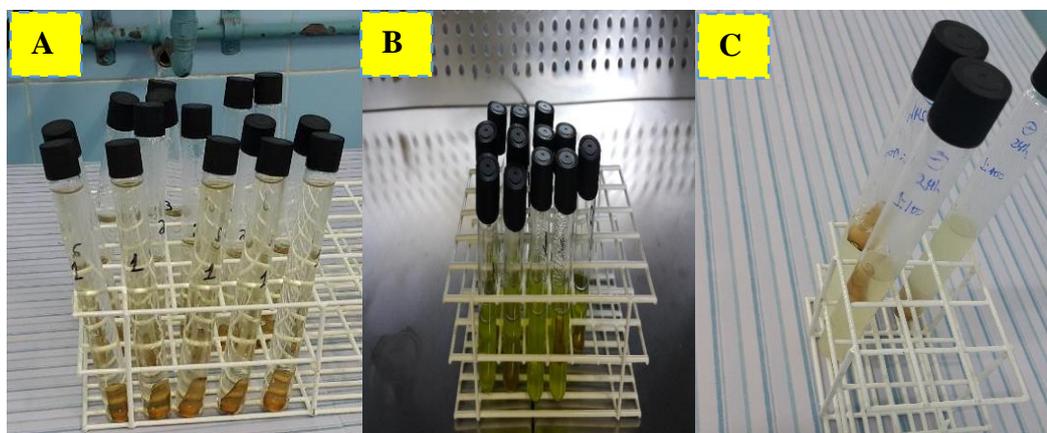
### **3.2.4 Glicose**

A determinação da glicose plasmática foi determinada pelo método enzimático- colorimétrico, utilizando kit comercial (marca Doles®). As amostras de sangue foram centrifugadas por 10min a 1000g, para a separação do plasma dos eritrócitos. Logo após foram para os tubos de ensaio contendo 1mL do reagente de cor da glicose e 10uL de plasma, um tubo de ensaio como o branco com 1mL do reagente de cor e um tubo de ensaio como padrão com 1mL do reagente de cor e 10µL do reagente padrão que é uma solução aquosa contendo 100 mg/dL de glicose. Foram homogeneizados e levados para o banho-maria por 5 minutos a 37° C. Logo após foi levado ao espectrofotômetro com comprimento de onda de 510mm.

### 3.3 Análise da água

Foram feitas as análises químicas da água, oxigênio dissolvido, pH, e análises microbiológicas da água onde foram coletados os animais. Foram coletadas duas amostras da água em uma garrafa plástica esterilizada, em dias diferentes. As análises microbiológicas para contagem de coliformes totais e coliformes fecais foram realizadas pelo método do número mais provável (NMP) ou também método de tubos múltiplos, que se divide em duas etapas: teste presuntivo em caldo lactosado (Figura 2A), e teste confirmativo em caldo verde brilhante e caldo *E.C* (Figura 2B).

Figura 2. Tubos das análises microbiológicas. A: Caldo lactosado (teste presuntivo); B: caldo verde brilhante (teste confirmatório), C: meio EC.



Fonte: Autor

#### 3.3.1 Teste presuntivo

Para o teste presuntivo foram usados 15 tubos, distribuídos de cinco em cinco, com 10 mL e caldo lactosado adicionados de um tubo de Durham, onde as amostras de água foram inoculadas em três diluições: 1:1; 1:10 e 1:100.

Os primeiros cinco tubos foram inoculados com uma pipeta esterilizada, com 10 ml da amostra de água (diluição 1:1). O segundo grupo de cinco tubos recebeu uma alíquota de 1 ml da amostra (diluição 1:10) e o último grupo recebeu uma alíquota de 0,1 ml da amostra (diluição 1:100). Os tubos foram incubados a 37,5°C durante 24 horas.

A interpretação do resultado foi avaliada após 24 horas de incubação, a partir da formação de gás dentro do tubo de Durhan, indicando a presença de metabolismo bacteriano. Os tubos que não apresentaram a formação de gás permaneceram por mais 24 horas na estufa, para posterior interpretação do resultado.

### **3.3.2 Teste Confirmativo**

O teste confirmativo foi realizado a partir de todos os tubos que apresentaram resultado positivo no teste presuntivo nas 3 diluições. Para tal, as amostras dos tubos positivos foram inoculadas em caldo verde brilhante na presença de tubo de Durhan com uma alça de platina, previamente flambada e fria. Em seguida, os tubos foram identificados e incubados durante 24 horas a 37,5°C.

No final de 24 horas, havendo a formação de gás dentro do tubo de Durhan o teste foi considerado positivo. Caso a formação de gás não tenha ocorrido, os tubos permaneceram na estufa por mais 24 horas. Para a interpretação dos resultados e avaliação dos coliformes totais na amostra em questão, determinou-se o número mais provável (NMP) por 100 mL de água, a partir da combinação formada pelos tubos positivos nas três diluições, conforme a Tabela 1 retirada do manual prático de análise de água (FUNASA, 2006).

A avaliação dos coliformes fecais foi realizada a partir da repicagem das amostras positivas no teste presuntivo para o caldo EC na presença de tubo de Durhan. Os tubos foram, então, incubados a 44,5 °C por 24 horas. A presença de gás evidenciada no tubo de Durhan indicou a positividade do teste e a confirmação da presença de *E. coli* na amostra analisada. Caso um resultado positivo não tenha

vido observado, os tubos permaneceram incubados por mais 24 horas para a interpretação final dos resultados.

Tabela 1- NMP com limite de confiança de 95% para várias combinações de resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL).

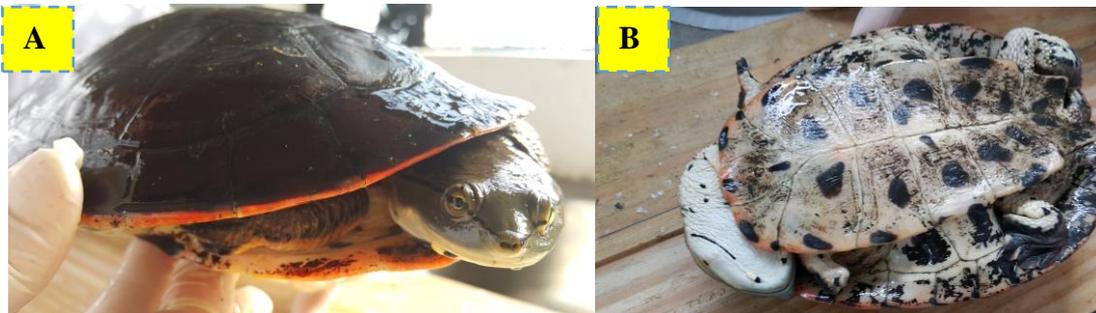
Combinação de positivos	NMP/100mL	Limites	
		Inferior	Superior
5-3-2	140	60	360
5-3-3	170	80	410
5-4-0	130	50	390
5-4-1	170	70	480
5-4-2	220	100	560
5-4-3	280	120	690
5-4-4	350	160	820
5-5-0	240	100	1300
5-5-2	500	200	2000
5-5-3	900	300	2900
5-5-4	1600	600	5300
5-5-5	≥1600	-	-

Fonte: Adaptado de FUNASA, 2006.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

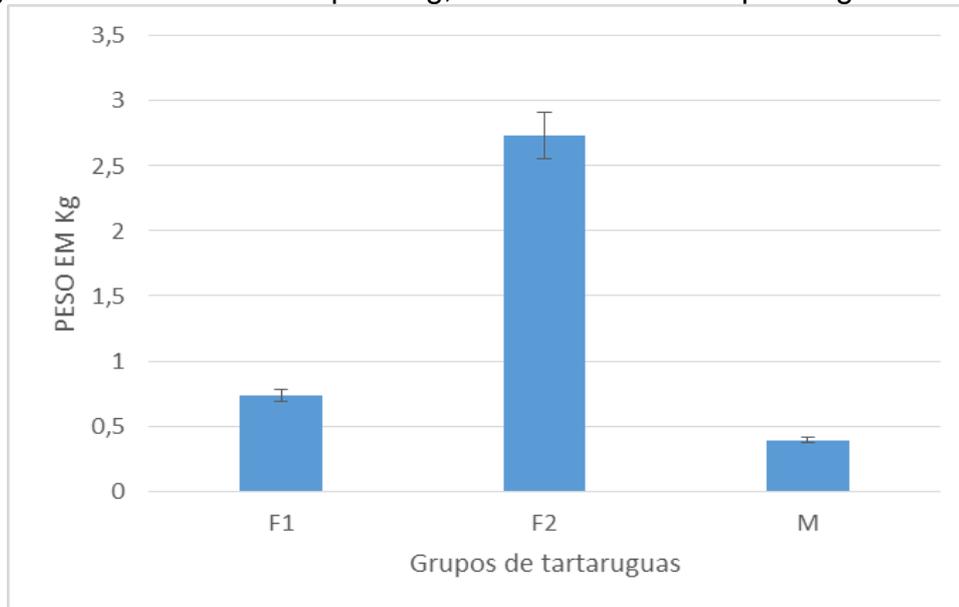
Todos os 21 quelônios capturados eram da mesma espécie **cágado-de-barbelas** (*Phrynops hilarii*) (Figura 3), e é caracterizada por conseguir dobrar seu pescoço para ocultar a cabeça na carapaça ter duas barbelas gular na região mandibular no seu pescoço. Os quelônios eram cinco machos e dezesseis fêmeas que foram diferenciadas pelo tamanho, altura da carapaça, forma do plastrão e fenda da placa anal (formato de U para machos e de V para fêmeas), conforme Puerto (2008). Os animais foram divididos em três grupos, para melhor entendimento nos resultados, os animais tinham pesos e tamanhos diferenciados por isso foi considerado: Macho (M), grupo fêmea menor que um quilo (F1) e fêmea mais que dois quilos (F2). O peso  $\pm$  erro padrão está representado na Figura 4, entre os três grupos.

Figura 3. Cágado encontrado no córrego felizardo espécie *Phrynops hilarii*. Vista frontal (A). vista ventral para observação do plastrão (B)



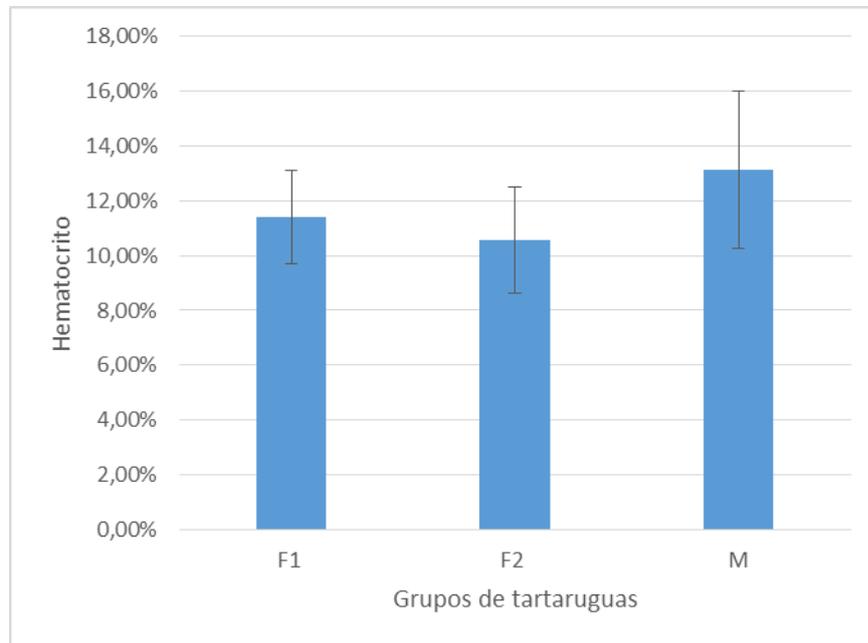
Fonte: Autor

Figura 4- Peso médio  $\pm$  em erro padrão em kg dos quelônios encontrados no córrego. F1= fêmeas menor que 1 kg, F2= fêmeas maior que 2 kg e M= machos.



Os dados de hematócrito obtidos dos 21 quelônios estão apresentados na figura 5, no qual as médias dos três grupos foi de (M):13,13 %, (F1): 11,41% e (F2): 10,57%. O hematócrito teve valores inferiores ao obtidos por Medeiros (2012), em tartarugas tigre-d'água-americano (*Trachemys scripta elegans*). Segundo o autor Puerto (2008), em três tipos de rios diferente deve médias entre,  $18,33 \pm 3,79$ ,  $23,80 \pm 4,27$  e  $23,00 \pm 4,90$  nos rios Ribeirão Piracicamirim, rio Piracicaba e zoológico de São Paulo, respectivamente, esse estudo citado teve valores superiores aos resultados obtidos nesse estudo. Os valores de hematócrito inferiores a 20% e, quando maior a 40%, podem representar anemia, (THRALL et al., 2004), sendo que essa condição foi representada nos animais desse estudo. O hematócrito em répteis tem uma faixa entre 20 a 40% (PUERTO, 2008). Os estudos citados acima não expressam a quantidade de coagulante que foi usado.

Figura 5- Análises dos resultados do hematócrito com erro padrão.



As análises de hemoglobina e glicose foram realizadas em nove amostras de sangue dos animais, então os grupos ficaram divididos: M (n=3), F1(n=3) e F2(n=3). Os níveis de Hemoglobina alcançaram as médias de cada grupo foi : (M):13,74 g/dL, (F1): 8,32 g/dL e (F2): 6,75 g/dL , entre os três grupos, na Tabela 3 mostras os resultados em média e erro padrão de cada grupo, foram feitas as análises em 9 tartarugas, três pertenciam ao grupo F1, três ao grupo F2 e três ao grupo M.

Tabela 3- Resultados obtidos nas análises de Hemoglobina em cada grupo.

GRUPOS	IDENTIFICAÇÃO DA TARTARUGA	QUANTIDADE DE HEMOGLOBINA (g/dL)	MÉDIA ± ERRO PADRÃO
<b>F1</b>	2	15,57	8,32 ± 3,64
	17	5,29	
	19	4,1	
<b>F2</b>	3	8,28	6,75 ± 0,80
	20	5,52	
	21	6,47	
<b>M</b>	1	19,71	13,74 ± 4,07
	4	15,57	
	18	5,95	

Ao se analisar o resultado obtido de hemoglobina, em cágados, constatou se que estes resultados estão na média ao da literatura consultada, sendo que Pessoa (2015), determinaram uma média de 5,8 g/dL, para animais desta mesma espécie. Para as tartarugas esses autores verificaram ainda, não haver diferença significativa entre sexos, e que os mesmos parecem aumentar com a idade.

Segundo Puerto (2008), em três tipos de rios diferente as médias foram entre, 4.60± 0.66, 6.48± 1.68 e 5.77± 1,30 g/dL, nos rios ribeirão Piracicamirim, rio Piracicaba e zoológico de São Paulo, resultados estão em média ao obtidos nesse estudo. Já em tartarugas tigre-d'água-americano (*Trachemys scripta elegans*) o autor Medeiros et al. (2012), teve resultados em média de 7,1 %, inferiores aos nossos resultados. Sypek e Borysenko (1988), mostram que na maioria das espécies dos répteis a hemoglobina está entre 6 e 12 g/dL, mas Brites (2002), em seu trabalho, obteve a amplitude de variação entre 4,50 a 10,00 g/dL, entre os estudos citados, nossos resultados estão na média de hemoglobina em répteis. Conforme Stacy et al. (2011), a maioria dos répteis clinicamente saudáveis apresenta hematócrito de 20-40% e hemoglobina de 5,5-12g/dL.

Thrall (2004) afirma que valores de hematócrito inferiores a 20% sugerem anemia, mas não é possível afirmar que os animais aqui estudados estavam anêmicos, pois os parâmetros hematológicos podem ter grandes variações entre

machos e fêmeas na qual a análise comparativa entre os sexos não foi realizada devido à grande diferença entre a quantidade de animais machos e fêmeas.

Observa-se, nos níveis de Glicose as seguintes médias na Tabela 4, o valor encontrado neste estudo foi de (M): 54,31mg/dL, (F1): 63,38 mg/dL e (F2): 58,97 mg/dL, sendo que Pessoa (2015), determinaram uma média de 76,56 g/dL, para animais desta mesma espécie. Segundo autor Dias-Tavares et al. (2012); para as espécies *P.expansa*, *P. unifilis* e *P. sextuberculata* as médias eram de:  $92.7 \pm 22.2$ ,  $149.9 \pm 66.5$  e  $127.1 \pm 42.2$  mg/dL. Ao se analisar os resultados obtidos de glicose, em cágados, constatou-se que estes resultados estão inferiores ao da literatura consultada, isso pode constatar que os animais estavam estressados. Quelônios em condições estressantes apresentam aumento de catecolaminas (resposta primária), induzindo mudanças nos parâmetros fisiológicos (resposta secundária), que comprometem seu desempenho (resposta terciária) e aumentam a suscetibilidade às doenças. O estresse que elas tiveram na captura e no cativeiro, podem ter influenciados nos baixos níveis de glicose, segundo Dias-Tavares et al. (2012), inicialmente os animais tentam fugir, tanto na coleta como no cativeiro, mas depois parecem restringir o metabolismo, mantendo um estado de hipometabolismo, para tentar enfrentar tal situação adversa por maior tempo possível.

Tabela 4- Resultados obtidos nas análises de Glicose em cada grupo.

GRUPOS	IDENTIFICAÇÃO DA TARTARUGA	RESULTADOS GLICOSE (mg/dL)	MÉDIA ± ERRO PADRÃO
<b>F1</b>	2	35,88	63,38 ± 15,44
	17	64,95	
	19	89,31	
<b>F2</b>	3	26,25	58,97 ± 9,96
	20	52,13	
	21	58,97	
<b>M</b>	1	64,76	54,31 ± 5,27
	4	50,32	
	18	47,86	

As informações hematológicas são utilizadas para caracterizar condições que afetam o organismo, levando a mudanças das células sanguíneas, como anemias (CAMPBEEL; ELIS, 2007). Os Resultados obtidos encontraram algumas diferenças

entre estudos citados, é importante ressaltar que existem outros fatores que podem estar alterando de maneira direta ou indireta os resultados hematológicos e que podem influenciar os resultados nesse estudo. Os valores hematológicos variam dependendo da amostragem sanguínea, manejo e técnicas de análises, condições do habitat, idade, gênero, estado nutricional, uso de anticoagulantes e mudanças ambientais (ALBURQUERQUE, 2007). Os animais capturados de vida livre do córrego Felizardo foram mantidos em cativeiro durante uma semana para começar as análises, isso poderia influenciar os resultados hematológicos.

Nas análises da água do córrego Felizardo, a concentração média de oxigênio dissolvido foi de 9,0 mg/L e a temperatura de 17,6 °C, não foi possível fazer mais análises químicas e físicas da água. Quanto aos resultados das análises microbiológicas, as contagens de coliformes totais das duas amostras de água pelo método do NMP foram de 350 e 170 coliformes totais/100 mL (Tabela 2), a partir das combinações 5-3-3 e 5-4-4, obtidas a partir do caldo verde brilhante (Figura 6). Entretanto, a presença de *E. coli* não foi detectada, a partir do meio E.C (Figura 7), evidenciando a ausência de coliformes fecais nas amostras analisadas da água onde os animais foram capturados. Os valores obtidos nos resultados foram comparados à resolução nº 20 e ao artigo nº 26 do CONAMA/86 para balneabilidade, resultando em uma água de classe 1.

Tabela 2. Contagem de coliformes totais e fecais através do método NMP

Amostra	Coliforme totais	Coliformes fecais
1	350	0
2	170	0

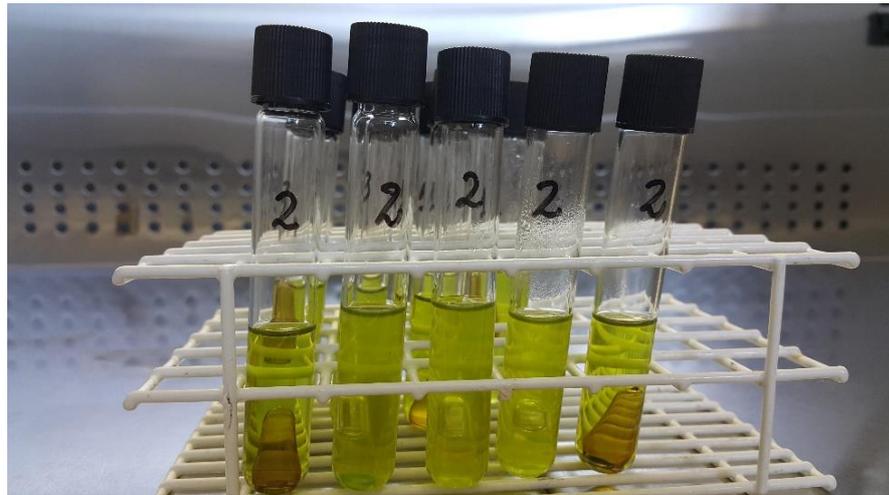
#### CLASSES – CONAMA 1986

Coliformes Fecais – (200) classe I | Coliformes Totais - classe I (1,000)

Coliformes fecais - (1000) classe II | Coliformes Totais - classe II (5,000)

Coliformes Fecais – (4000) classe III | Coliformes Totais - classe III (20,000)

Figura 6. Tubos com caldo verde brilhante com formação de gás



Fonte: Autor

Figura 7. Tubos negativos para coliformes fecais (*E.coli*)



Fonte: Autor

Quanto maior o número da classe, menos nobre são os usos destinados para a água, e conseqüentemente os padrões ambientais de qualidade serão menos exigentes. Em comparação à resolução nº 20 do CONAMA/86 os resultados obtidos nesse estudo mostram que a água do córrego pode ser classificada como água de classe I, que aceita um máximo de 1,000 coliformes totais e 200 coliformes fecais por 100 mL de amostra. Embora tenha crédito de ser usada como abastecimento doméstico, no campus ela é mais utilizada para criação de animais.

## **5 CONCLUSÃO**

Todos os cágados capturados eram de mesma espécie cágado-de-barbelas (*Phrynops hilarii*) e os resultados dos parâmetros fisiológicos estiveram respectivamente na média de outros estudos da literatura, e a água do córrego Felizardo pode se classificar na classe I, conforme a resolução 20 do Conama de 1986, que pode ser utilizada para fins de cultivos da Aquicultura.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os valores encontrados neste estudo são os primeiros apresentados na região do Pampa Brasileiro. Não é possível afirmar que os animais aqui amostrados sejam considerados portadores de alterações hematológicas, mas também é audacioso afirmar que esses valores servem como padrão hematológico para a espécie na região do sul do Brasil. Os dados desta pesquisa servem como um parâmetro para essa população específica e podem auxiliar outros estudos com animais em situação semelhante aos aqui apresentados na região. Sugere-se que sejam realizados mais estudos com comparação entre quelônios de diferentes locais para verificar se a poluição altera os parâmetros hematológicos, para que se possa melhor compreender a fisiologia desses animais. A água não pode ser considerada não poluída, pois tem que ter mais estudos mas ficou em fins nobres, para cultivos de aquicultura, e pode-se fazer outros estudos sobre parâmetros físicos e químicos do córrego.

## 7 REFERÊNCIAS

ANDRADE, P. C. M. et al. Diagnostic of comercial farming of chelonians (*Podocnemis sp.*) in **Amazonas State – Brazil. Joint Meeting of Ichthyologist and Herpetologist**. Manaus, 2003.

ALBURQUERQUE, L.C.R. **Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos de células sanguíneas em viperídeos neotropicais dos gêneros e crotalus mantidos em cativeiro**.2007. 177f. Tese (Dourado em Ciências) - Faculdade, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

**AQUICULTURA NO BRASIL: o desafio é crescer**. 2008. Disponível em: <<http://projetopacu.com.br/public/paginas/202-livro-aquicultura-no-brasil-o-desafio-e-crescer.pdf>>; Acesso em: 3 de novembro de 2016.

BRITES. V. L. C. **Hematologia, bioquímica de sangue, parasitologia, microbiologia, algas epizoárias e histopatologia de *Phrynops geoffrauns* (Scwigger 1812) (Tertudinata, Chelidae), expostos a diferentes influencias antrópicas no rio Uberalinha, Minas Gerais**. 2002. 196 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade de São Carlos, São Carlos. 2002.

BÉRNILS, R.S. **Brazilian reptiles – list of species**. 2010. Disponível em: <[http://www.sbherpetologia.org.br/lista\\_repteis/ListaRepeteis30Setembro2012-INGLES.pdf](http://www.sbherpetologia.org.br/lista_repteis/ListaRepeteis30Setembro2012-INGLES.pdf)> . Acesso em: 30 dez. 2014.

CAMPBEEL, T. W.; ELLIS, C. Avian e exotic animal hematology e cytology. 3th ed. **Low: blacwell publishing**, p. 287, 2007.

CANTO, S. L. O. Consumo de produtos da fauna silvestre no estado do Amazonas. In: **CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE FAUNA SILVESTRE EN AMAZONIA Y LATINOAMERICA**. 4, Assuncion – Paraguay, 1999.

COATES, M. Hemoglobin function in the vertebrates: An evolutionary model. **Journal of Molecular Evolution**, v.6, n.4, p. 285-307, 1975.

FERRAREZI, A. L. **Estudos estruturais e funcionais das hemoglobinas de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812)**. 2006. 137f. Tese (Mestrado em Biologia Animal) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Julip Mesquita Filho, São José do rio Preto, São Paulo, 2006.

FABRES, L; BUJES, C. S.; VERRASTRO, L. **A fauna de quelônios do Parque Moinhos de vento como ferramenta para ponderar sobre a percepção ambiental de seus usuários, Porto Alegre-RS, UFRGS, 2009.**

FUNASA. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual Prático de Análise de Água**, 2ª ed, Brasília: Fundação Nacional de Saúde, Assessoria de Comunicação e Educação em Saúde, Brasília, 2006.

GIBBONS, J.W., et al. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **BioScience**, v. 50, p .653-666, 2000.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. **Manual de Hematologia Veterinária**, Livraria Varela Ltda, v.5, 1994.

GUYTON, A. C.; HALL J.E. Textbook of medical physiology. **Philadelphia: w.b saunders**, p. 973, 2000.

MEDEIROS, N. C. et al. Efeito do sítio de venopunção nos parâmetros hematológicos em tigre-d'água-americano, *Trachemys scripta elegans*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Colégio Brasileiro de Patologia Animal - CBPA, v. 32, p. 37-40, 2012.

MOLINA, F.B. Mating behavior of captive Geoffroy's side-necked turtles, *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae). **Herpetological Natural History** 4, v.2, 1996.

NAVARRO, E. A. **Dicionário de tupi antigo**: a língua indígena clássica do Brasil. São Paulo. Global. 2013.

OLIVEIRA, R. C. O. Panorama da Aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 1, 2009.

PESSOA, L. M. B. - **Ocorrência De Hemoparasitas Em Tartarugas-Da-Amazônia (Podocnemis Expansa) E Cágados-De-Barbicha (Phrynops Geoffroanus) Oriundas Da Fundação Zoológico De Brasília, Distrito Federal.** 2015. 47 f. Tese (Mestrado saúde Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

PINTO, M. G. M.; Quelônios e jacarés do Brasil, PNUD/RAN/IBAMA. **IBAMA.** Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/projetos\\_centros/ran/quelonios\\_jacares.htm](http://www.ibama.gov.br/projetos_centros/ran/quelonios_jacares.htm)>. Acesso em: 30 dezembro 2014.

PUERTO. E. A. G. **Citometria de fluxo de leucitos sanguíneos de *Phrynops geoffroanus* (Scweigger,1812) provenientes de ambientes poluídos: metodologia de isolamento e estimulação.** 2008. 104 f. Tese (Mestre em Ciências) - Faculdade de medicina veterinária e zootecnia universidade de são Paulo, São Paulo, 2008.

QUEROL, E.; QUEROL, M. V. M.; LOBON-CERVIÁ, J. Estimativa da Densidade e Biomassa da população de *Cichlasoma portalegrense* (Hensel, 1870) (*Pisces, Cichlidae*) através do método de três capturas sucessivas com pesca elétrica em um arroio do Pampa brasileiro. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS**, série Zoologia, Porto Alegre, v. 10. 1997.

ROME. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. **FAO.** 2010, p.197 Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>>; acesso em: 3 de novembro de 2016.

REBOUÇAS, A. et al. Águas doces no Brasil: Capital ecológico, uso e conservação. **Escrituras editora**, v.1, São Paulo,1999.

SILVA, S. M. et al. Aspectos microbiológicos do arroio salso de cima e rio Uruguai, na região urbana de Uruguaiana, Rs, Brasil. **biodiversidade Pampeana Pucrs, Uruguaiana**, v.6, p. 34-39, 2008.

SILVA, A. E. P. et al. Influência da precipitação na qualidade da água do rio Purus. **Acta Amazônica**, 2008.

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

SYPEK, J.; BORYSENKO, M. REPTILES. In: ROWLEY, A. F.; RATCLIFFE, N. A. (Ed.). **Vertebrate blood cells.** Cambridge: University Press, p. 211-256, 1988.

SOUZA, F.L. Uma revisão sobre padrões de atividades, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidea). **Phyllomeduse** 3, v.1, 2004.

SOUZA, A.M.; MALVASIO, A.; LIMA, L. A. B. Estudos do esqueleto em *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron) (Reptilia, Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 4. 2000

TAVARES-DIAS, M.; Mataqueiro, M. I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 157-162, 2004.

TAVARES-DIAS et al. Propriedades do sangue de três espécies de quelônios do gênero *Podocnemis* de vida livre da reserva biológica do Abufari, baixo rio Purus, do estado do Amazonas, Brasil. In Souza et al., **Patologia e Sanidade de organismos Aquáticos**. p. 195-220. 2012 .

THRALL, M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical chemistry**. 2ª ed: Wiley-BlackWell, 2004.

TROIANO; SILVA. Valores hematológicos de referencia en tortuga terrestre argentina. **Analecta veterinária**, p. 47-51,1998.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade da água e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte, Minas Gerais: UFMG, v. 2, p. 243, 2005.

ZAGO, C. E. S. et al. Morphological, morphometrical and ultrastructural characterization of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) blood cells, in different environments. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p. 721-726, 2010.

