

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Estudos morfológicos, histoquímicos e ultraestruturais  
do tubo digestivo de três espécies do gênero *Leporinus*  
(Characiformes, Anostomidae)**

**Renata Alari Chedid**

**Zootecnista**

**Jaboticabal, São Paulo  
2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**Estudos morfológicos, histoquímicos e ultraestruturais  
do tubo digestivo de três espécies do gênero *Leporinus*  
(Characiformes, Anostomidae)**

**Renata Alari Chedid**

**Orientador: Dr. Carlos Alberto Vicentini**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora.

**Jaboticabal, São Paulo**  
**2016**

C514e Chedid, Renata Alari  
Estudos morfológicos, histoquímicos e ultraestruturais do tubo digestivo de três espécies do gênero *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae) / Renata Alari Chedid. -- Jaboticabal, 2016  
iv, 97 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2016  
Orientador: Carlos Alberto Vicentini  
Banca examinadora: Maria Terezinha Siqueira Bombonato, Rita Luiza Peruquetti, Máira Aparecida Stefanini, Luciene Patrici Papa  
Bibliografia

1. Epitélio de revestimento. 2. Células caliciformes. 3. Células "rodlet". 4. Mucossubstâncias. 5. Peixes Neotropicais. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.31

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE:** Estudos morfológicos, histoquímicos e ultraestruturais do tubo digestivo de três espécies do gênero *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae).

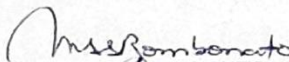
**AUTORA:** RENATA ALARI CHEDID

**ORIENTADOR:** CARLOS ALBERTO VICENTINI

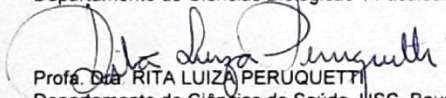
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



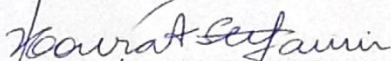
Prof. Dr. CARLOS ALBERTO VICENTINI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências de Bauru



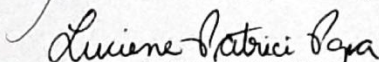
Profa. Dra. MARIA TEREZINHA SIQUEIRA BOMBONATO  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências de Bauru



Profa. Dra. RITA LUIZA PERQUETTI  
Departamento de Ciências da Saúde, USC, Bauru-SP



Profa. Dra. MAIRA APARECIDA STEFANINI  
Departamento de Morfologia e Patologia / Universidade Federal de São Carlos



Profa. Dra. LUCIENE PATRICI PAPA  
Universidade Nove de Julho, Botucatu-SP

Jaboticabal, 04 de fevereiro de 2016

*Ando devagar porque já tive pressa  
E levo esse sorriso porque já chorei demais  
Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe?  
Só levo a certeza de que pouco eu sei  
Ou nada sei.*

*Conhecer as manhãs e as manhãs,  
O sabor das massas e das maçãs,  
É preciso amor pra poder pulsar,  
É preciso paz pra poder sorrir,  
É preciso a chuva para florir*

*Penso que cumprir a vida seja simplesmente  
Compreender a marcha e ir tocando em frente  
Como um velho boiadeiro levando a boiada  
Eu vou tocando dias pela longa estrada eu vou  
Estrada eu sou.*

*Conhecer as manhãs e as manhãs,  
O sabor das massas e das maçãs,  
É preciso amor pra poder pulsar,  
É preciso paz pra poder sorrir,  
É preciso a chuva para florir*

*Todo mundo ama um dia todo mundo chora,  
Um dia a gente chega, no outro vai embora  
Cada um de nós compõe a sua história  
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz  
De ser feliz.*

*Tocando em frente  
Almir Sater*

## ***DEDICATÓRIA***

*Aos meus pais, Jorge e Leni, meus maiores mestres  
e meu amado esposo Ricardo,  
com carinho dedicado.*

## *AGRADECIMENTO ESPECIAL*

*Ao meu orientador*

*Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini*

*Pelos ensinamentos compartilhados, pela paciência e dedicação essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico-científico. Pela amizade, apoio e compreensão nos momentos mais difíceis.*

*Agradeço a confiança e atenção.*

*“Bons professores são mestres temporários, professores fascinantes são mestres inesquecíveis!”*

*Ser um mestre inesquecível é formar seres humanos que farão diferença no mundo. Suas lições de vida marcam para sempre os solos conscientes e inconscientes dos seus alunos. O tempo pode passar e as dificuldades podem surgir, mas as sementes de um professor fascinante jamais serão destruídas. ”*

*Augusto Cury*

## *AGRADECIMENTOS*

*A Deus, pela Vida, pelas oportunidades e por Sua presença em todos os momentos, iluminando os passos nesta caminhada.*

*Aos meus pais, **Jorge Abdo Chedid e Leni Lêda Alari Chedid**, por serem meu porto seguro e me apoiarem sempre com amor, carinho, compreensão e sabedoria.*

*À minha adorada irmã, **Daniela Alari Chedid**, por estar sempre presente em minha vida, me proporcionando momentos de alegria, descontração e muitos jantares japoneses.*

*Ao meu amado marido, **Ricardo Hideo Mori**, por toda paciência, apoio, conselhos e por nunca me deixar só, sendo meu porto seguro em todos os momentos.*

*Aos meus avós, **Otacílio Alari e Vilma P. Alari**, que participaram ativamente da minha educação, me incentivaram a nunca desistir dos meus sonhos e manterem nossa família sempre unida.*

*A todos os meus familiares que sempre torceram e apoiaram minhas empreitadas.*

*Às minhas lindas sobrinhas, **Ayumi e Midori**, por me presentear com seus sorrisos e carinho.*

*Aos meus sogros, **Sérgio Tomio Mori e Cazue M. H. Mori**, pelo apoio nas coletas e conselhos sábios.*

*A toda família do meu marido, pela acolhida carinhosa, me fazendo sentir parte desta família. .*

*À **Mayu**, nossa cachorrinha, que completa nossa família nos enchendo de carinho e alegria sempre.*

*À **Profa. Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini**, pela atenção, colaboração, amizade e aconselhamentos em todos os momentos dessa trajetória.*

*À **Profa. Dra. Maria Terezinha S. Bombonato**, pelas oportunidades, amizade e conselhos importantíssimos.*

*Ao **Prof. Dr. Alexandre N. Silveira**, por acreditar no meu trabalho e me apoiar sempre.*

*Ao **Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP**, pela oportunidade de dar continuidade à minha formação acadêmica.*

*A todos os funcionários do CAUNESP, em especial, **David e Vera**, por toda atenção e pronto atendimento.*

*Aos **docentes** do CAUNESP, do Dep. de Ciências Biológicas da FC/Bauru, do Dep. de Biologia e Zootecnia da UNESP/Ilha Solteira e demais Campus que participaram de minha formação científica, pelo conhecimento compartilhado.*

*Ao **Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências** do Campus de Botucatu – UNESP, pelo processamento do material e disponibilidade dos equipamentos.*

*Ao querido amigo, **Claudemir Kunh Faccioli**, cuja história de vida é uma inspiração para mim. Sua presença constante e amizade sincera são essenciais em minha vida.*

*Às amigas, **Jana, Dri, Pati, Larys e Vivi**, pela companhia nessa estadia em Bauru, sempre com muitas risadas e histórias interessantes para contar.*

*Aos **companheiros e amigos do LAMOA**, em especial ao amigo **Mario**, que auxiliaram e apoiaram meu trabalho, e pela companhia nos reconfortantes momentos do café.*

*Ao técnico de laboratório, **Antônio Carlos do Amaral**, por todo auxílio, apoio e amizade.*

*Aos **amigos** de Graduação e Pós-Graduação, pelas discussões científicas e outras nem tão científicas assim.*

*A todos que de contribuíram na minha formação e na realização deste trabalho.*

## *MUITO OBRIGADA!*



## *APOIO FINANCEIRO*

*Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da Bolsa de Doutorado (processo nº 2012/17810-2).*

*Ao Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos (LAMO) do Departamento de Ciência Biológicas, da Faculdade de Ciências da UNESP, Campus Bauru, pelo suporte técnico.*

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS .....	1
RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUÇÃO .....	10
1.1 Características gerais do tubo digestivo de peixes teleósteos .....	12
1.2 Características do gênero <i>Leporinus</i> e importância das espécies em estudo .....	17
2. OBJETIVOS .....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1 Coleta e identificação dos exemplares .....	23
3.2 Anatomia macroscópica.....	25
3.3 Histologia.....	25
3.4 Histoquímica de mucossubstâncias.....	27
3.5 Microscopia eletrônica de varredura.....	27
3.6 Microscopia eletrônica de transmissão .....	28
3.7 Detecção da enzima fosfatase alcalina.....	29
4. RESULTADOS .....	30
4.1 Observações gerais.....	31
4.2 Esôfago .....	34
4.4 Estômago.....	46
4.6 Intestino.....	56
5. DISCUSSÃO.....	67
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88

## *LISTA DE FIGURAS E TABELAS*

<b>Figura 1.</b> Exemplares das espécies de <i>Leporinus</i> fotografadas após anestesia. <b>A.</b> Exemplar adulto de <i>Leporinus obtusidens</i> . <b>B.</b> Exemplar adulto de <i>L. elongatus</i> . <b>C.</b> Exemplar adulto de <i>L. macrocephalus</i> . .....	24
<b>Figura 2.</b> Vista lateral da região da cabeça dos peixes estudados evidenciando a orientação da boca. As setas indicam o sentido da abertura da fenda bucal. <b>A.</b> <i>L. macrocephalus</i> , boca em posição terminal. <b>B.</b> <i>L. obtusidens</i> , boca em posição subterminal. ....	32
<b>Figura 3.</b> Estrutura geral do tubo digestivo. <b>A.</b> Vista ventral da cavidade peritoneal de <i>L. macrocephalus</i> , mostrando grande quantidade de gordura visceral (gv) e o posicionamento dos órgãos: fígado (fi), estômago (et), cecos pilóricos (cp) e intestino (it). <b>B.</b> Tubo digestivo de <i>L. obtusidens</i> com destaque para o posicionamento dos órgãos do tubo digestivo: esôfago (es), estômago (et), intestino anterior (ia), cecos pilóricos (cp), intestino médio (im), intestino posterior (ip) e reto (rt). Notar a grande quantidade de gordura visceral (gv). <b>C.</b> Tubo digestivo de <i>L. elongatus</i> após a limpeza da gordura visceral para análise morfométrica do intestino anterior (ia), médio (im), posterior (ip) e reto (rt); contagem dos cecos pilóricos (cp) e caracterização anatômica do esôfago (es) e estômago (et). .....	32
<b>Figura 4.</b> Estereomicrografias da superfície interna do esôfago de <i>L. macrocephalus</i> . <b>A.</b> Destaque para as pregas longitudinais com bordas em zigue-zague. <b>B.</b> Destaque para a constrição (setas) entre esôfago (es) e região cárdica do estômago (et). Notar a diferença entre as pregas esofágicas mais delgadas e com borda em zigue-zague, e as pregas da região cárdica do estômago espessas e com bordas lisas. ....	37
<b>Figura 5.</b> Micrografias de cortes transversais do esôfago. <b>A.</b> Vista geral do epitélio de revestimento esofágico em <i>L. obtusidens</i> (ep) (AT). <b>B.</b> Detalhe do epitélio de revestimento pavimentoso com destaque para as células caliciformes (asteriscos) coradas com Hematoxilina em <i>L. macrocephalus</i> (HE). <b>C.</b> Detalhe do epitélio de revestimento pavimentoso, composto por células epiteliais (setas) e células caliciformes (asteriscos) em <i>L. obtusidens</i> (AT). .....	37
<b>Figura 6.</b> Eletronmicrografias em microscopia eletrônica de varredura do esôfago. <b>A.</b> Corte transversal da porção anterior do esôfago de <i>L. obtusidens</i> . Destaque para a camada de tecido adiposo (ta). <b>B.</b> Corte longitudinal da porção posterior do esôfago de <i>L. elongatus</i> . Destaque para a camada de tecido adiposo (ta). <b>C.</b> Detalhes das pregas do esôfago de <i>L. macrocephalus</i> . <b>D.</b> Superfície das células epiteliais do esôfago de <i>L. elongatus</i> evidenciando microssaliências digitiformes das células epiteliais (seta). <b>E.</b> Epitélio pavimentoso do esôfago de <i>L. obtusidens</i> , composto por células epiteliais (ce) e células caliciformes (cc). Notar as microssaliências digitiformes nas células epiteliais superficiais (seta). <b>F.</b> Superfície epitelial do esôfago de <i>L. elongatus</i> . Destaque para a abertura das células caliciformes (asteriscos) e microssaliências digitiformes (seta). ....	38
<b>Figura 7.</b> Eletronmicrografias em microscopia eletrônica de transmissão do esôfago com destaque para as células epiteliais. <b>A.</b> Células epiteliais (ce) em vários extratos do epitélio esofágico. <b>B.</b> Célula epitelial achatada voltada para o lúmen esofágico. Notar núcleo alongado (n) e microssaliências digitiformes. <b>C.</b> Destaque para as junções de membrana entre as células do epitélio esofágico. Desmossomo (cabeça de seta preta) e interdigitações de membrana (cabeça de seta branca). <b>D.</b> Célula epitelial (ce) entre as células caliciformes (asteriscos). Notar o núcleo irregular (n) da célula epitelial e as interdigitações de membrana (cabeça de seta). Legendas: as setas em A e C indicam microssaliências digitiformes. ....	39
<b>Figura 8.</b> Eletronmicrografias de esôfago de com destaque para as células caliciformes. <b>A.</b> Células caliciformes (cc) alongadas formando uma camada contínua abaixo das células epiteliais (ce). <b>B.</b> Região apical da célula caliciforme (cc) com abertura (seta) entre as células epiteliais (ce). Notar os grânulos de secreção com eletrondensidades diferentes (asteriscos). <b>C.</b> Região basal da célula caliciforme com destaque para a forma arredondada do núcleo (n). <b>D.</b> Região basal da célula caliciforme com destaque para o retículo endoplasmático rugoso e núcleo arredondado (n). ....	40
<b>Figura 9.</b> Reações histoquímicas para detecção de mucossustâncias no epitélio esofágico. <b>A.</b> Porção posterior do esôfago de <i>L. elongatus</i> evidenciando reação forte ao PAS nas células caliciformes. <b>B.</b> Porção anterior do esôfago de <i>L. macrocephalus</i> evidenciando reação moderada ao PAS nas células caliciformes. <b>C.</b> Porção anterior do esôfago de <i>L. obtusidens</i> evidenciando reação forte ao AB (pH 2,5) nas células caliciformes. <b>D.</b> Associação entre mucossustâncias ácidas e neutras nas células caliciformes da porção posterior do esôfago de <i>L. elongatus</i> (AB (pH2,5) + PAS). .....	41

- Figura 10.** Porção anterior do esôfago de *L. macrocephalus* com destaque para os botões gustativos. A. Eletromicrografia da superfície esofágica evidenciando botões gustativos esparsos (seta). B e C. Eletromicrografias dos botões gustativos com destaque para as microvilosidades (cabeça de seta). D. Micrografia do epitélio de revestimento esofágico (ep) evidenciando um botão gustativo (asterisco) (HE). E. Micrografia do epitélio esofágico (ep) evidenciando reação PAS positiva na porção apical do botão gustativo (seta) (AB (pH 2,5) + PAS). ..... 42
- Figura 11.** Fotomicrografias de esôfago. A. Esôfago de *L. elongatus* com destaque o epitélio (ep), seguido por uma camada de tecido conjuntivo (tc) e uma espessa camada de tecido adiposo (ta). B. Corte transversal do esôfago de *L. macrocephalus*, com destaque para a camada de tecido adiposo (ta), seguida pela camada muscular estriada longitudinal interna (ml). C. Esôfago de *L. elongatus* com destaque para a camada muscular estriada circular externa (mc) seguida pela camada serosa. D. Eletromicrografia das fibras estriadas no esôfago de *L. obtusidens*. ..... 43
- Figura 12.** Micrografias da transição esôfago/estômago. A. Corte transversal evidenciando o epitélio estratificado pavimentoso no esôfago (es) seguido pelo epitélio simples colunar do estômago (et) em *L. obtusidens* (HE). B. Corte transversal evidenciando reação forte ao PAS nas células caliciformes esofágicas (asteriscos) e nas células epiteliais gástricas (setas) em *L. obtusidens*. C e D. Cortes transversais evidenciando células caliciformes esofágicas com associação de mucossustâncias neutras e ácidas (asteriscos) e células epiteliais gástricas com reação apenas para mucossustâncias neutras (setas) (AB pH 2,5 + PAS). E e F. Feixe de fibras estriadas (seta) observado na região cárdica do estômago de *L. elongatus*. Legendas: es- esôfago; et- estômago. .... 44
- Figura 13.** Estereomicrografias do estômago de *L. macrocephalus*. A. Vista geral da estrutura interna esôfago (es), estômago, dividido em regiões cárdica (ca), fúndica (fu) e pilórica (pi), formação do esfíncter pilórico (asteriscos), intestino anterior (ia) e cecos pilóricos (pi). B. Detalhe das pregas da região cárdica do estômago. C. Detalhe das pregas na região fúndica do estômago. D. Detalhe das pregas na região pilórica e do esfíncter (asteriscos). Legenda: As setas em B, C e D indicam o sentido da passagem do quimo. .... 48
- Figura 14.** Micrografias do epitélio de revestimento gástrico. A. Epitélio simples colunar da região cárdica em *L. elongatus* (TM). B. Epitélio simples colunar da região fúndica em *L. obtusidens*. Notar a diminuição da altura das células epiteliais na fosseta gástrica (seta) (AT). C e D. Epitélio simples colunar da região pilórica em *L. macrocephalus* (AT). Legenda: lp- lâmina própria; ep-epitélio. .... 49
- Figura 15.** Eletromicrografias de microscopia eletrônica de varredura da superfície do estômago. A. Corte longitudinal da região cárdica do estômago de *L. obtusidens*, com destaque para as pregas (setas). B. Corte longitudinal da região pilórica do estômago de *L. elongatus*, com destaque para o formato colunar das células epiteliais (ce). C e D. Superfície gástrica em *L. macrocephalus* evidenciando o formato poliédrico das células epiteliais (setas). .... 50
- Figura 16.** Eletromicrografias de microscopia eletrônica de transmissão do epitélio de revestimento da região cárdica do estômago de *L. elongatus*. A. Células epiteliais (ep) com núcleos basais (n) e grânulos de secreção apicais (seta). B. Célula epitelial, evidenciando núcleo (n), mitocôndrias (mt) e retículo endoplasmático rugoso (cabeça de seta). C. Região apical de célula epitelial, com destaque para a camada contínua formada pelos grânulos de secreção (seta). D. Micrografia evidenciando reação forte ao PAS no citoplasma apical das células epiteliais, onde se encontram os grânulos de secreção. E. Região apical das células epiteliais, evidenciando grânulos de secreção eletrondensos (seta), mitocôndrias (mt), interdigitações de membrana (cabeça de seta branca) e desmossomos (cabeça de seta preta). .... 51
- Figura 17.** Micrografias das regiões cárdica e fúndica com destaque para as glândulas gástricas na lâmina própria. A. Corte transversal da região cárdica, evidenciando grande quantidade de glândulas gástricas (gl) na lâmina própria em *L. macrocephalus* (AT). B. Corte longitudinal da região fúndica em *L. elongatus*, com destaque para lâmina própria repleta de glândulas gástricas. C. Glândulas gástricas (gg) na região fúndica de *L. macrocephalus*. Destaque para os feixes de tecido conjuntivo (verde) entre as glândulas gástricas e muitos vasos sanguíneos (setas) (TM). D. Glândulas gástricas (gl) na região cárdica de *L. macrocephalus*, mostrando citoplasma eosinófilo, feixes de tecido conjuntivo e vaso sanguíneo (vs). .... 52

**Figura 18.** Eletronmicrografias de microscopia eletrônica de transmissão das glândulas gástricas. A. Glândula gástrica da região cárdica do estômago de *L. macrocephalus*. B. Célula oxintopéptica, evidenciando microvilosidades (seta), sistema vesículo-lubular (cabeça de seta) e grânulos elétronicamente lucentes (asterisco). C. Região de divisão entre três glândulas gástricas, constituída por tecido conjuntivo (ct). D. Região basal da célula oxintopéptica, evidenciando núcleo arredondado (n), mitocôndrias (mt) e grânulos eletronicamente lucentes. .... 53

**Figura 19.** Reações histoquímicas no estômago. A e B. Região cárdica do estômago de *L. macrocephalus* apresentando forte reação ao PAS. Notar a camada de mucossustâncias neutras sobre o epitélio (setas). Nas glândulas gástricas (gg) é possível observar uma reação fraca ao PAS. (A: PAS; B: PAS + H). C. Reação forte ao AB (pH 2,5) nas criptas gástricas (asteriscos) em *L. obtusidens*. D. Associação de mucossustâncias neutras e ácidas na cripta gástrica (asterisco) em *L. elongatus* (AB (pH 2,5) + PAS). E. Região pilórica do estômago de *L. elongatus* mostrando forte reação ao AB (pH 2,5) (seta). F. Região pilórica do estômago de *L. obtusidens* mostrando associação entre mucossustâncias neutras e ácidas (seta). .... 54

**Figura 20.** Micrografias do estômago de *L. obtusidens*. A. Corte transversal da região fúndica com destaque para a divisão em camadas: mucosa (mu), submucosa (sm), muscular circular interna (mc) e muscular longitudinal externa (ml) (AT). B. Corte transversal da região pilórica com destaque para as camadas mucosa (mu), submucosa (sm), muscular circular (mc) e muscular longitudinal. Note a camada muscular mais espessa na região pilórica em relação a região fúndica (AT). C e D. Destaque para a camada muscular da mucosa (mm), submucosa (sm) e muscular circular interna na região fúndica do estômago (C: TM e D: AT). E e F. Tecido adiposo (ta) presente na região cárdica do estômago (E: eletronmicrografia de microscopia de varredura e F: AT). .... 55

**Figura 21.** Estereomicrografias do tubo digestivo de *L. obtusidens*. A. Tubo digestivo composto por esôfago (es), estômago (et), intestino anterior (ia), cecos pilóricos (cp), intestino médio (im), intestino posterior (ip) e reto (rt). B. Apêndice em formato cilíndrico, apresentando menor diâmetro apenas na extremidade distal. C. Pregas longitudinais com borda zigue-zague nos cecos pilóricos. D. Pregas circulares do intestino anterior. E. Pregas circulares do intestino médio. F. Pregas circulares do intestino posterior. G. Pregas longitudinais do reto. Legendas: As setas em C, D, E, F e G indicam o sentido da passagem do alimento. .... 59

**Figura 22.** Micrografias de cortes do intestino com destaque para as pregas e epitélio intestinal. A. Corte longitudinal do intestino anterior de *L. macrocephalus* com destaque para a organização das pregas intestinais. Notar pregas maiores (seta) com pregas secundárias (asteriscos) e pregas menores (cabeça de seta) (AT). B. Corte transversal do intestino médio de *L. macrocephalus* com destaque para o epitélio intestinal (ep) (AT). C. Corte transversal do ceco pilórico de *L. elongatus* com destaque para os esterócitos (et) (HE). D. Corte transversal do intestino posterior de *L. obtusidens* com destaque para as células caliciformes (asteriscos) entre os esterócitos (et) (AT). .... 60

**Figura 23.** Eletronmicrografias em microscopia eletrônica de varredura do intestino. A. Superfície do Intestino anterior de *L. obtusidens*. B. Cecos pilóricos de *L. macrocephalus* com destaque para o epitélio simples colunar (ep) e borda em escova dos enterócitos (cabeça de seta). C. Superfície do intestino médio de *L. elongatus* com destaque para microvilosidades (cabeça de seta) e abertura de células caliciformes (setas). D. Intestino posterior de *L. obtusidens* com destaque para abertura de células caliciforme (seta) entre os enterócitos (asteriscos). E e F. Cortes longitudinais do intestino posterior de *L. obtusidens*, com destaque para abertura (seta) das células caliciformes (pontilhado) entre os enterócitos (et). G. Micrografia mostrando a abertura de célula caliciforme (cc) entre os enterócitos (et). .... 61

**Figura 24.** Eletronmicrografias em microscopia eletrônica de transmissão do epitélio intestinal. A. Corte longitudinal do epitélio simples colunar composto por células caliciformes e enterócitos. Notar núcleo irregular da célula caliciforme (nc) e núcleos alongados dos enterócitos (n). B. Corte transversal do epitélio do intestino médio. Destaque para os grânulos eletronicamente densos (setas). C. Região apical dos enterócitos do intestino anterior, com destaque para as microvilosidades (mv), junções de membrana (cabeça de seta) e mitocôndrias (mt). D. Região apical de uma célula caliciforme entre enterócitos (et) com destaque para abertura da célula caliciforme (asterisco) e os grânulos de secreção (gs). E e F. Marcação para a enzima fosfatase ácida nas microvilosidades do intestino anterior (setas) de *L. macrocephalus*. .... 62

**Figura 25.** Eletronmicrografias de microscopia eletrônica de transmissão com destaque para a altura das microvilosidades (mv). A. Intestino anterior. B. Intestino médio. C. Intestino posterior. D e E. Marcação para enzima fosfatase alcalina (seta) nas microvilosidades dos enterócitos..... 63

**Figura 26.** Células “rodlet” (seta) no intestino anterior e cecos pilóricos de *L. elongatus* e *L. macrocephalus*. A e B. Micrografias do intestino anterior de *L. elongatus*. Destaque para o epitélio de revestimento com célula caliciforme (cc), enterócitos (et) e célula “rodlet” (cr). C e D. Eletronmicrografias do intestino anterior de *L. macrocephalus* evidenciando a presença de células “rodlets” localizadas na porção apical do epitélio entre os enterócitos (et). Notar a espécie capsula fibrosa (cf) envolvendo a membrana plasmática da célula “rodlet” e as junções de membrana (setas). E e F. Célula “rodlet” na base do epitélio dos cecos pilóricos em *L. elongatus*. Destaque para o núcleo basal (nr), bastonetes (bt), retículo endoplasmático rugoso (re), e capsula fibrosa (cf) delgada..... 64

**Figura 27.** Reações histoquímicas no intestino. A. Intestino anterior de *L. macrocephalus* apresentando reação ao PAS nas células caliciformes (asteriscos) e na borda em escova (cabeça de seta). B. Intestino posterior de *L. obtusidens* apresentando reação positiva ao AB (pH 2,5) nas células caliciformes (asteriscos). C. Intestino posterior de *L. obtusidens*, apresentando reação ao PAS nas células caliciformes (asteriscos) e borca em escova dos enterócitos (cabeça de seta). D. Reto de *L. elongatus* apresentando células caliciformes com cor azulada (seta) e violeta (asterisco), indicando interação entre mucossustâncias ácidas e neutras (AB (pH2,5) + PAS). Legenda: ep-epitélio..... 65

**Figura 28.** Micrografias do intestino de *L. elongatus* evidenciando a divisão em camadas. A. Corte transversal do intestino anterior (AT). B. Corte transversal do intestino anterior com destaque para as camadas muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (AT). C. Corte transversal do intestino médio mostrando epitélio (ep), lâmina própria/submucosa (lp/sm) e camada muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (TM). D. Corte transversal do intestino posterior com destaque para a camada muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (TM). ..... 66

**Tabela 1.** Identificação taxonômica de *Leporinus elongatus*, *Leporinus macrocephalus* e *Leporinus obtusidens*.....33

**Tabela 2.** Análises histoquímicas de mucossustâncias nas diferentes regiões do tubo digestivo de *Leporinus elongatus*, *L. obtusidens* e *L. macrocephalus*.....45

## *RESUMO*



Este trabalho descreveu o tubo digestivo *Leporinus elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens*, por meio de estudos anatômicos, histológicos, histoquímicos e ultraestruturais. Fragmentos de esôfago, estômago e intestino foram destinados para rotinas morfológicas, histoquímicas de mucossustâncias e citoquímica para detecção de fosfatase alcalina. A estrutura do tubo digestivo das três espécies estudadas estava composta por esôfago curto, estômago cecal em formato de Y e intestino enovelado com pregas circulares relacionadas ao aumento do tempo de passagem do alimento. Cecos pilóricos foram observados no intestino anterior, associados à digestão e aumento da superfície de absorção. O esôfago apresentou epitélio estratificado pavimentoso, composto por células epiteliais e células caliciformes. As células epiteliais voltadas para o lúmen esofágico apresentaram microssaliências digitiformes na membrana plasmática apical, associadas a proteção e ancoragem de mucossustâncias. As células caliciformes apresentaram citoplasma repleto de grânulos de secreção com eletrondensidades diferentes. Os grânulos foram compostos por mucossustâncias neutras e ácidas em diferentes intensidades dependendo da região do órgão observada e da espécie estudada. Em *L. macrocephalus* foram encontrados botões gustativos na região anterior do esôfago, importantes para o paladar e seleção do alimento. O estômago foi dividido em regiões cárdica e fúndica glandulares e região pilórica aglandular com presença de esfíncter pilórico. O epitélio de revestimento gástrico apresentou-se simples colunar com mucossustâncias apicais neutras relacionadas a proteção da mucosa contra os sucos gástricos. O intestino apresentou epitélio simples colunar composto principalmente por enterócitos com microvilosidades apicais que diminuíram em altura na direção posterior, e células caliciformes que aumentaram em número na direção do reto. A enzima fosfatase alcalina foi observada na borda em escova com maior intensidade no intestino anterior. As células caliciformes mostraram grânulos de secreção neutros e ácidos, importantes para proteção, lubrificação e transformação do alimento em quimo. Ainda, observou-se células “rodlet” no epitélio intestinal de *L. macrocephalus* e *L. elongatus* associadas ao sistema imune de teleósteos. Os resultados apresentados possibilitaram correlacionar as características morfológicas e funcionais do tubo digestivo de três espécies importantes do gênero *Leporinus*, contribuindo para o desenvolvimento de estudos nutricionais, essenciais para a melhoria da piscicultura baseada nessas espécies.

**Palavras-chave:** epitélio de revestimento, células caliciformes, células “rodlet”, mucossustâncias, peixes neotropicais.

*ABSTRACT*

This work described the digestive tube of *Leporinus elongatus*, *L. macrocephalus* and *L. obtusidens* by anatomic, histological, histochemical and ultrastructural studies. Fragments of esophagus, stomach, and intestine were destined to morphological, histochemical and cytochemistry routines. The structure of the digestive tube of the three species studied were composed by short esophagus, Y-shaped caecal stomach and coiled intestine with circular folds related to an increase in time of food passage. Pyloric caeca were observed in the anterior intestine associated with digestion and a increase of absorption surface. The esophagus presented a stratified squamous epithelium, composed by epithelial cells and goblet cells. The epithelial cells turned to the esophageal lumen presented fingerprint-like microridges in the apical plasmatic membrane associated to the protection and Anchorage of mucosubstances. The goblet cells presented cytoplasm filled with secretion granules showing different eletrodensities. The granules were composed of neutral and acidic mucosubstances in different instensities dependind of the organ region observed and specie studed. In *L. macrocephalus* were found taste buds in the anterior region of esophagus, important for taste and food selection. The stomach was divided in glandular cardiac and fundic regions and aglandular pyloric region with the presence of pyloric sphincter. The gastric lining epithelium was identified as columnar simple with neutral apical mucosubstances related to musoca protection against gastric acids. The instestine presented simple columnar epithelium composed mainly for enterocytes with apical microridges that decreased in height in the posterior direction and goblet cells that increased in number toward the rectum. The enzyme alkaline phosphatase was observed in the brush border with higher intensity in the anterior intestine. The goblet cells showed neutral and acidic secretion granules important for protection, lubrication and conversion of food into chyme. Furthermore, it was observed rodlet cells in the intestinal epithelium of *L. macrocephalus* and *L. obtusidens* associated with the imune system of teleosts. The results presented allow to correlate the morphological and functional characteristics of the digestive tube of three important species in *Leporinus* genre, contributing to the development of nutritional studies, essential to the improvement of Brazilian fish culture.

**Keywords:** lining epithelium, goblet cells, rodlet cells, mucosubstances and neotropical fish.

## ***1. INTRODUÇÃO***

O Brasil apresenta grande potencial hídrico e climático para a criação de diversas espécies de peixes neotropicais. Algumas já se destacam no cenário comercial, tais como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e o piaçu (*Leporinus macrocephalus*) (BALDISSEROTTO e GOMES, 2005). Contudo, a piscicultura nacional apresenta resultados modestos de desenvolvimento, devido aos processos de produção adotados e à falta de informações sobre as espécies nativas com potencial zootécnico (BEERLI et al., 2004; FAO, 2014). O aprimoramento das técnicas de reprodução, alimentação e manejo na piscicultura dependem de estudos que forneçam informações básicas sobre as espécies nativas. Além de um importante produto comercial, as espécies nativas estão sofrendo quedas significativas no tamanho de suas populações devido à pesca extrativista, degradação ambiental e construção de usinas hidrelétricas (ROSA e LIMA, 2008). Nesse sentido, estudos envolvendo a morfologia do tubo digestivo de espécies de peixes neotropicais são de suma importância para o desenvolvimento de dietas mais adequadas, colaborando assim o desenvolvimento da piscicultura do país.

Segundo a literatura especializada, o tubo digestivo de peixes pode ser dividido em cavidade bucofaringea, esôfago, estômago e intestino, sendo a parede desses órgãos constituída pelas camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa (GONÇALVES et al., 2013). Porém, entre os peixes gnatostomados, há uma considerável variação na estrutura do tubo digestivo (KARDONG, 2010). Nesse sentido, diversos autores relataram que existem diferenças tanto na morfologia quanto nas funções dos órgãos do tubo, retratando a elevada diversidade dos peixes e suas diferentes posições na cadeia trófica (KAPOOR et al., 1975; TIBBETS, 1997; FISHELSON et al., 2012; FACCIOLI et al., 2014). De acordo com Smith (1989), essas diferenças podem ser relacionadas com o hábito alimentar da espécie, sendo que em geral os carnívoros apresentam estômago grande e elástico e intestino curto, enquanto espécies herbívoras apresentam estômago pequeno e intestino longo. Porém, para onívoros, essas

generalizações não são adequadas devido à grande variabilidade morfológica encontrada no sistema digestório (ABELHA et al., 2001; ALBRECHT et al., 2001).

Alguns fatores podem interferir nas características do tubo digestivo, como agentes poluidores e microrganismos patogênicos, provocando alterações principalmente na superfície dos epitélios (FANTA, 1991). O epitélio é composto basicamente por células epiteliais e células secretoras. As células secretoras são responsáveis pela secreção de mucossustâncias correlacionadas com diferentes funções, como lubrificação, degradação proteolítica e inibição de microrganismos patogênicos (REID et al., 1988). Assim sendo, as descrições morfológicas do tubo digestivo, bem como a análise histoquímica de mucossustâncias das células secretoras em peixes, despertam especial interesse por fornecerem informações sobre a fisiologia da digestão, o hábito alimentar, saúde das espécies e qualidade do ambiente.

### **1.1 Características gerais do tubo digestivo de peixes teleósteos**

As características anatômicas dos órgãos do tubo digestivo de peixes têm sido descritas por diversos autores e foram relatadas diferenças marcantes, principalmente no padrão de pregas, formato e tamanho dos órgãos (BÉRTIN, 1958; RODRIGUES et al., 2008; HERNÁNDEZ et al., 2009; FACCIOLI et al., 2014). Segundo Hernández et al. (2009), o esôfago de *Rhamdia quelen* é um órgão tubular curto com superfície interna composta por dobras primárias, secundárias e algumas terciárias que aparecem desde a região da bucofaringe, sendo mais abundante na porção posterior do esôfago. Em *Hemisorubim platyrhynchos*, Faccioli et al. (2014) observaram a existência de pregas longitudinais espessas que permitem grande distensibilidade ao esôfago, facilitando a condução do alimento da cavidade bucofaringea ao estômago. Rodrigues et al. (2008) dividiram o esôfago de *Leporinus macrocephalus* em duas porções anatomicamente distintas, sendo que a primeira tem início após a extremidade caudal da faringe e chega ao septo transversal, com pregas longitudinais espessas e bordas lisas, havendo pregas secundárias entre elas, enquanto a segunda, inicia-se

logo após o septo e chega a região cárdica do estômago onde duas pregas esofágicas se unem para formar uma prega maior.

O estômago dos peixes apresenta inúmeras variações anatômicas que são geralmente relacionadas ao tipo e tamanho do alimento ingerido (LIEM et al., 2001). Bértin (1958) propôs que o estômago de peixes pode ser classificado em três categorias anatômicas gerais: sifonal, cecal e retilíneo. Por sua vez, Nikolsky (1963) evidenciou que espécies carnívoras predadoras, como *Cichla temensis*, apresentam estômago sacular com grande capacidade de distensão, ao passo que espécies herbívoras, como *Tilapia heudeloti*, apresentam estômago retilíneo e pouco distensível. Em peixes iliófagos, como *Prochilodus lineatus*, o estômago apresenta-se como uma moela, destinado à trituração (GODINHO et al., 1970). Porém, para peixes onívoros não há uma característica geral ou que possa ser considerada padrão (RODRIGUES et al., 2008). Ainda, há espécies que não apresentam estômago, como em alguns Cyprinídeos (BÉRTIN, 1958).

Em relação à morfologia do intestino em peixes, existem diferentes critérios e grande discordância na literatura referente à divisão de seus segmentos. Alguns estudos estão fundamentados em características anatômicas, outros na histologia e, ainda outros, em considerações funcionais. Segundo critérios histofisiológicos, o intestino pode ser dividido em: anterior, relacionado com a absorção de gorduras (NACHI et al., 1998); médio, responsável pela absorção de macromoléculas proteicas (STROBAND e KROON, 1981; STROBAND e van der VEEN, 1981); posterior, relacionado com a absorção de água e eletrólitos (STROBAND et al., 1979); e reto, relacionado com os processos de defecação. Em *Rhamdia quelen*, Hernández et al. (2009) também dividiram o intestino em quatro partes, porém com as denominações ascendente, descendente, convoluta e terminal, baseada no posicionamento do órgão na cavidade.

Algumas espécies de peixes, apresentam cecos pilóricos na porção inicial do intestino, descritos como evaginações digitiformes da parede intestinal. São visualizados como estruturas tubulares com fundo cego que se abrem no intestino anterior individualmente ou agrupados (HOSSAIN e DUTTA, 1998). Variam muito em número e tamanho dependendo da espécie

estudada ou até mesmo em indivíduos da mesma espécie (GODINHO et al., 1970; SEIXAS FILHO et al., 1999; SEIXAS FILHO et al., 2001). Borges et al. (2006) observaram a formação de cecos pilóricos em larvas de *Bryconamericus iheringii* e relacionaram essa estrutura ao aumento da área de absorção do intestino, armazenamento de alimento e aumento do pH do bolo alimentar para torna-lo alcalino e, assim, deixa-lo pronto para ser rapidamente aproveitado desde a porção inicial do intestino.

Um critério muito utilizado para classificação de espécies de acordo com o hábito alimentar é o quociente intestinal. Este índice foi proposto por Bértin (1958) e leva em consideração a relação entre o comprimento padrão do animal e o comprimento total do intestino. De acordo com este parâmetro, valores acima de 5 representam peixes herbívoros e detritívoros, enquanto que valores menores que 1 espécies carnívoras, valores intermediários (maiores que 1 e menores que 5) representam peixes onívoros.

Nos estudos histológicos, verificou-se que o esôfago de teleósteos apresenta a camada mucosa com epitélio de revestimento variável de acordo com a espécie estudada, podendo ser colunar simples, como em *Chelmon rostratus* (TAN e TEH, 1974), pseudoestratificado, como em *Leporinus taeniofasciatus* (ALBRECHT et al., 2001), e estratificado pavimentoso, como em *Hemisorubim platyrhynchos* (FACCIOLI et al., 2014). Os principais tipos celulares encontrados no esôfago são as células epiteliais e as células caliciformes (ELBAL e AGULLEIRO, 1986; SARASQUETE et al., 2001; NAGUIB et al., 2011). Em *Hemisorubim platyrhynchos*, Faccioli et al. (2014) observaram que a mucosa esofágica era constituída por epitélio e lâmina própria e não apresenta a subcamada muscular da mucosa. Além disso, os autores descreveram três tipos celulares no epitélio esofágico: células epiteliais, caliciformes e “club”.

Hernández et al. (2009) observaram em *Rhamdia quelen*, que o estômago apresenta três regiões histologicamente distintas: cárdica (não glandular), fúndica (glandular) mais desenvolvida e pilórica menos desenvolvida que as outras regiões. Em *Prochilodus scrofa*, Moraes et al. (1997) observaram que a região cárdica do estômago apresenta mucosa bem



desenvolvida, repleta de glândulas tubulares em sua lâmina própria, a região fúndica é aglandular, com a camada muscular muito desenvolvida e a região pilórica também não apresenta glândulas gástricas e possui camada muscular espessa. Em *Leporinus taeniofasciatus*, as regiões cárdica e fúndica são separadas por um esfíncter, enquanto que em *L. friderici* não existe essa separação (ALBRECHT et al., 2001).

A camada mucosa intestinal é revestida por epitélio simples colunar com dois tipos celulares predominantes: células absortivas ou enterócitos e células caliciformes. Os enterócitos são células colunares com núcleo basal e borda em escova, enquanto as células caliciformes estão arranjadas entre os enterócitos, e geralmente aumentam em número para a porção final do intestino (HERNÁNDEZ et al., 2009; FACCIOLI et al., 2014). Além disso, Laurà et al. (2012), encontraram células “rodlet” no epitélio intestinal de *Dicentrarchus labrax*. Em microscopia de luz, estas células apresentam formato de pera, com núcleo basal e bastonetes no citoplasma, que podem ser evidenciados com Azul de Toluidina (MAZON et al., 2007).

Com relação aos estudos histoquímicos no tubo digestivo de peixes, as mucossustâncias, secretadas pelas células caliciformes esofágicas, recobrem a superfície epitelial formando uma barreira protetora, evitando lesões durante a passagem do alimento e, ainda, atuando na defesa física e imunológica contra microrganismos (HUMBERT et al., 1984; LEKNES, 2011). As células caliciformes esofágicas podem apresentar mucossustâncias neutras (PAS positivas) e mucossustâncias ácidas (AB positivas). A intensidade das reações varia de acordo com a região esofágica estudada (FACCIOLI et al., 2014). A mucosa gástrica apresenta mucossustâncias apicais, geralmente neutras que protegem o epitélio contra a autodigestão provocada por ácidos e enzimas digestivas produzidas pelas glândulas gástricas (DOMENEGHINI et al., 2005; HERNÁNDEZ et al., 2009; DÍAZ et al., 2008).

As secreções das células caliciformes intestinais variam consideravelmente de acordo com a espécie estudada e com a região do tubo digestivo (GRAU et al., 1992). As mucossustâncias ácidas protegem o epitélio intestinal contra degradação pela ação das

glicosidases, aumentam a resistência do muco contra degradação bacteriana (CARRASSÓN et al., 2006) e podem regular a absorção de proteínas ou de fragmentos, bem como de íons e fluidos (PETRINEC et al., 2005). As mucossubstâncias neutras podem fornecer cofatores requeridos para a quebra enzimática do alimento (ANDERSON, 1986) e também, quando combinadas com a enzima fosfatase alcalina, são responsáveis pela digestão e emulsificação do alimento em quimo (CLARKE e WITCOMB, 1980).

Estudos ultraestruturais envolvendo as células epiteliais do esôfago citam a presença de microssaliências digitiformes na membrana plasmática apical (MORRISON, 1987; GRAU et al., 1992, ARELLANO et al., 2001; ELBAL e AGULLEIRO, 1986; CARRASSÓN et al., 2006; FACCIOLI et al., 2015). Essas microssaliências protegem a superfície epitelial contra traumas mecânicos provocados pela passagem de materiais ingeridos e são responsáveis por ancorar as mucossubstâncias secretadas pelas células caliciformes (HUMBERT et al., 1984; GRAU et al., 1992; MURRAY et al., 1994). Em microscopia eletrônica de transmissão foi observado que as células epiteliais do estômago de peixes apresentam numerosos grânulos de tamanho e forma diferentes, e ainda que estes são secretados no lúmen por exocitose (OSTOS-GARRIDO et al., 1993; FACCIOLI et al., 2014). As células oxintopépticas são o único tipo celular presente nas glândulas gástricas de peixes (OSTOS-GARRIDO et al., 1996). Estas células apresentam o sistema túbulo-vesicular associado a muitas mitocôndrias (MATTISON e HOLSTEIN, 1980). Além disso apresentam complexo de Golgi e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvidos (SUÍÇMEZ e ULUS, 2005; OSTOS-GARRIDO et al., 1993).

Com relação ao intestino, a caracterização ultraestrutural dos enterócitos pode auxiliar na compreensão da função das diferentes regiões intestinais. Os enterócitos relacionados com absorção de gordura apresentam grandes e numerosas vesículas delimitadas por membranas com conteúdo claro localizado na região supranuclear (MORRISON, 1987; GRAU et al., 1992; MURRAY et al., 1996; CARRASSÓN et al., 2006). De acordo com Arellano et al. (2001), os enterócitos da região anterior do intestino de *Solea senegalensis* apresentaram quilomícrons, indicando absorção de lipídeos. Por outro lado, regiões intestinais relacionadas com absorção

proteica apresentaram enterócitos com elaborado sistema de invaginações de membrana, canais citoplasmáticos, vesículas de pinocitose e sistema lisossomal bem desenvolvido (GARGIULO et al., 1998). De acordo com Abaurrea-Equisoáin et al. (1993), as membranas celulares estão envolvidas na absorção, por pinocitose, de macromoléculas de proteínas configurando uma via alternativa da digestão de proteínas em teleósteos, complementar ao estômago (GARGIULO et al., 1998).

A fosfatase alcalina é uma enzima transmembrana localizada na borda em escova dos enterócitos (GAWLICKA et al., 1995). Esta enzima está relacionada com membranas celulares onde ocorre transporte ativo atuando na absorção de nutrientes. Nesse sentido, Villanueva et al. (1997) concluíram que uma importante função da fosfatase alcalina no intestino de *Ciprinus carpio* foi a desfosforilação de componentes nutricionais da dieta, considerando sua alta atividade no primeiro seguimento intestinal. Ainda, diversos estudos têm relatado a fosfatase alcalina com a homeostase e proteção intestinal (BATES et al., 2007; LALLÈS, 2010). Esta enzima pode ser marcada e visualizada sob microscopia eletrônica de transmissão pela técnica descrita por Robinson e Karnovsky (1983). Assim, a análise da fosfatase alcalina somada aos estudos histoquímicos pode contribuir para uma melhor interpretação da função de cada região do intestino.

## **1.2 Características do gênero *Leporinus* e importância das espécies em estudo**

A família Anostomidae, relacionada dentro da ordem dos Characiformes, compreende um grupo de 12 gêneros e apresenta uma ampla distribuição na América do Sul e Central, com representantes em todas as bacias brasileiras. Os gêneros mais representativos dessa família são: *Leporinus* e *Schizodon* (GÉRY, 1977). *Leporinus* é o gênero com o maior número de espécies da família Anostomidae, com 87 espécies catalogadas. São peixes migradores que se reproduzem na cabeceira dos rios durante a estação chuvosa, a maioria das espécies do gênero é considerada onívora de amplo espectro. Este gênero destaca-se ainda pela presença de

algumas espécies com grande valor econômico tais como *Leporinus elongatus* (piapara), *L. macrocephalus* (piaçu), *L. fridericie* (piaú verdadeiro), *L. piaú* (piaú de três pintas) e *L. obtusidens* (piava) (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Em geral, as espécies do gênero *Leporinus* apresentam grande aceitação no mercado e são muito conhecidas por pescadores comerciais, esportivos e colecionadores de peixes ornamentais (BALDISSEROTTO e GOMES, 2005). Segundo Reynalte-Tataje et al. (2001), *L. elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens* apresentam características zootécnicas interessantes e promissoras para o cultivo em programas de piscicultura, entre elas a facilidade de reprodução em cativeiro (reprodução induzida), idade e tamanho na maturidade sexual, tolerância ao manejo, e fácil aceitação da ração na fase adulta. Porém, a falta de informações sobre as espécies impossibilita uma piscicultura de alto nível, principalmente no que diz respeito a preparação de rações e métodos de manejo eficientes (KUBITZA, 1999). Diante do exposto, neste estudo foram utilizadas três espécies de elevado valor comercial do gênero *Leporinus* descritas a seguir:

*Leporinus elongatus* (VALENCIENNES, 1850), a piapara, é uma espécie de grande porte (pode atingir 60cm), apresenta corpo cinza-prateado, clareando no sentido do ventre. Os flancos apresentam três máculas arredondadas e sete a oito faixas dorsais em forma de V. As nadadeiras peitorais, ventrais e a anal são amareladas (BRITSKI et al., 2007). Devido ao hábito reprodutivo migratório, os adultos são encontrados principalmente no canal principal do rio, enquanto os juvenis habitam ambientes lênticos, sendo comumente encontrados nas lagoas marginais (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010). Estudos sobre o hábito alimentar da piapara demonstraram que se trata de uma espécie onívora com preferência por insetos e plantas encontradas na região marginal do rio (AGOSTINHO e ZALEWSKI, 1996; HAHN et al., 1997). Atualmente a espécie é produzida para programas de repovoamento de rios sob influência de barragens e pesque-pague (SIROL e BRITTO, 2006).

*Leporinus obtusidens* (VALENCIENNES, 1837), conhecida popularmente como piava,

possui corpo alongado e fusiforme, apresenta coloração prateada com nadadeiras amareladas e boca subterminal. Pode ser encontrada principalmente nas Bacias do São Francisco, do Paraná e do Uruguai (GODOY, 1987; NOMURA, 1984). A alimentação de juvenis e adultos é diversificada, com destaque para sementes, insetos aquáticos, crustáceos e moluscos (ZANIBONI-FILHO et al., 2002). A produção desta espécie é realizada principalmente em estações de pisciculturas para repovoamentos (ROSA e LIMA, 2008).

*Leporinus macrocephalus*, Garavello e Britski, 1988, o piaçu ou piavuçu, pode ser encontrado em toda Bacia do Paraná e Paraguai. Possui corpo alongado e fusiforme, boca terminal e apresenta três máculas escuras verticalmente alongadas (BRITSKI et al., 2007; NAVARRO et al., 2006). Também é uma espécie de hábito alimentar onívoro de amplo espectro, podendo consumir itens diversificados, que vão desde plantas, até pequenos crustáceos, moluscos e insetos. Os espécimes de maior porte podem alimentar-se de pequenos peixes (BALDISSERTTO e GOMES, 2010). Rodrigues et al. (2008) realizaram um estudo anatômico do tubo digestivo da espécie, porém não foram realizadas análises histológicas, histoquímicas ou ultraestruturais. Atualmente, é a espécie do gênero *Leporinus* mais procurada para piscicultura, sendo criada para a pesca recreativa, programas de repovoamento de rios e abastecimento de restaurantes especializados em peixes (BALDISSERTOTTO e GOMES, 2010).

## ***2. OBJETIVOS***

Considerando a necessidade de estudos referentes a espécies nativas, tanto para a preservação da biodiversidade como para a piscicultura, o presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo morfofisiológico do tubo digestivo de três espécies onívoras pertencentes ao gênero *Leporinus* (*L. elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens*). Tais espécies foram destacadas no livro “Espécies nativas para piscicultura no Brasil” (BALDISSEROTTO e GOMES, 2005; 2010) sendo consideradas de grande importância econômica e social no País.

Para tanto foram realizadas análises e descrições das características anatômicas, histológicas, histoquímicas de mucossubstâncias, ultraestruturais e citoquímicas do tubo digestivo de exemplares adultos de *L. elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens* provenientes de ambiente natural com ênfase para:

- Descrição anatômica dos órgãos do tubo digestivo, com destaque para o formato e posição dos órgãos, bem como caracterização das pregas do esôfago, estômago e intestinos;
- Características histológicas dos órgãos do tubo digestivo, com colorações de Azul de Toluidina e Hematoxilina/Eosina para composição geral das camadas dos órgãos e Tricrômico de Masson para destacar as fibras musculares e tecido conjuntivo;
- Características da superfície interna dos órgãos do tubo digestivo, por meio de microscopia eletrônica de varredura;
- Características ultraestruturais das células da mucosa de esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica) e intestino (anterior, cecos pilóricos, médio, posterior e reto), por meio de microscopia eletrônica de transmissão;
- Características histoquímicas do tubo digestivo, com ênfase para a detecção de mucossubstâncias (neutras e ácidas) no epitélio de revestimento utilizando reações com Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Alcian Blue (pHs 2,5 e 1,0);
- Estudo citoquímico para detecção da enzima fosfatase alcalina no epitélio intestinal.

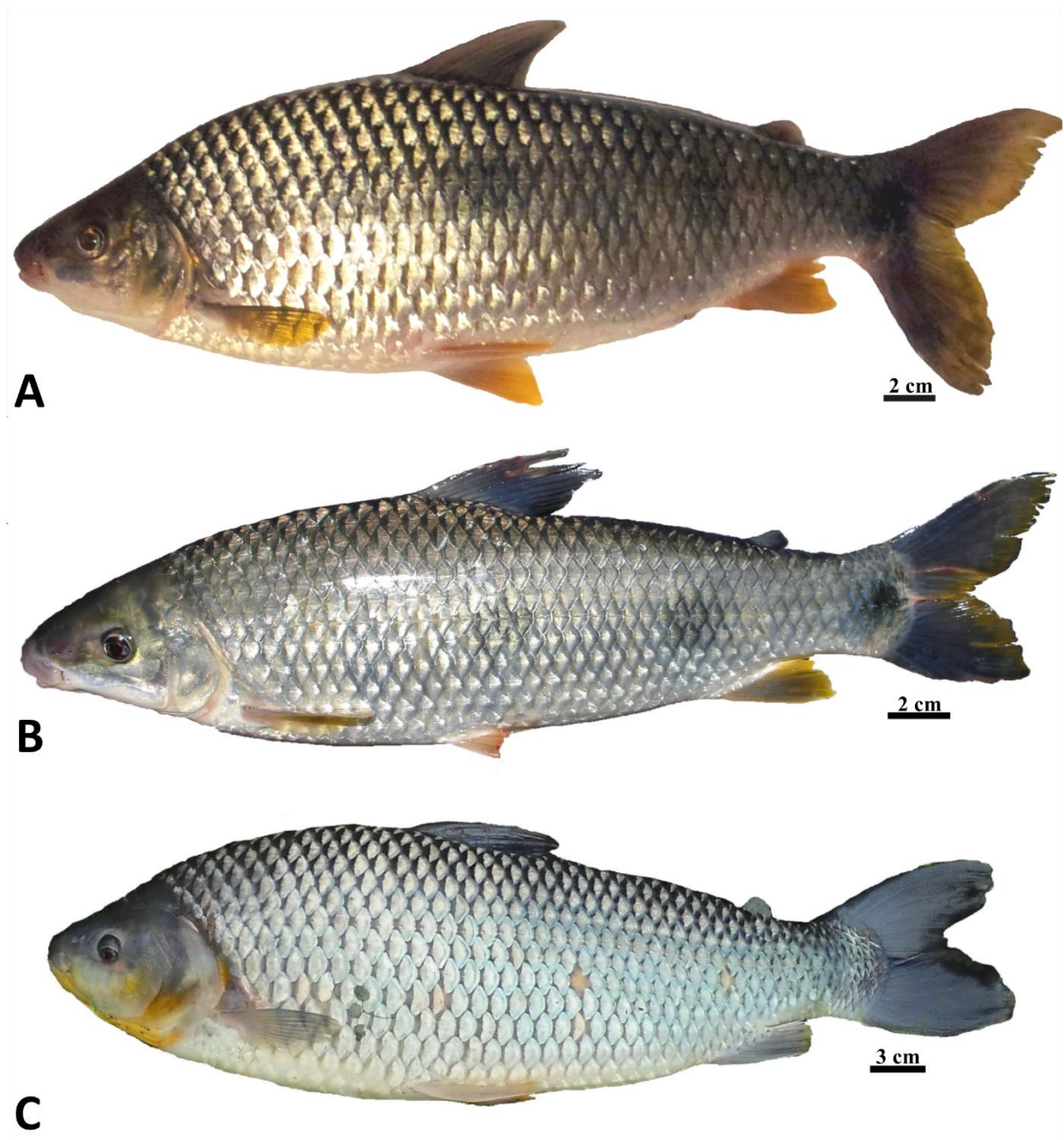
### *3. MATERIAL E MÉTODOS*



### 3.1 Coleta e identificação dos exemplares

As coletas de exemplares adultos de *Leporinus obtusidens*, *L. elongatus* e *L. macrocephalus* (Fig. 1) foram realizadas no rio Paraná, região do município de Castilho, SP, com auxílio de equipamento de pesca (anzóis, carretilhas e varas). As coletas foram realizadas em conformidade com a “Autorização para Atividades com Finalidade Científica”, cedida pelo Ministério do Meio Ambiente – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (número: 37425-1). Foram capturados 20 exemplares adultos de cada espécie, atendendo as medidas mínimas exigidas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, sendo 30cm para *L. elongatus* e *L. obtusidens* e 40cm para *L. macrocephalus*.

Os animais foram então anestesiados em cloridrato de benzocaína para observação de características importantes para a confirmação taxonômica das espécies de acordo com Britski et al. (2012) para *L. elongatus* e *L. obtusidens*; e Garavello e Britski (1988) para *L. macrocephalus*. Tais características foram: arranjo dentário, posição da boca, padrão de coloração (corpo e nadadeiras). Posteriormente, os animais foram eutanasiados por saturação anestésica em solução de cloridrato de benzocaína. Tal procedimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal, SP (protocolo número: 028218/12). Em seguida, foi realizada uma incisão longitudinal na região ventral dos animais para análise e retirada dos órgãos do tubo digestivo que foram destinados para os diferentes grupos de estudo.



**Figura 1.** Exemplos das espécies de *Leporinus* fotografadas após anestesia. **A.** Exemplo adulto de *Leporinus obtusidens*. **B.** Exemplo adulto de *L. elongatus*. **C.** Exemplo adulto de *L. macrocephalus*.

### 3.2 Anatomia macroscópica

Inicialmente foram determinados o comprimento total e comprimento padrão de cada exemplar com auxílio de trena SN4010 (Sanny<sup>®</sup>, Brazil). A seguir, os animais foram dissecados com vista à fotodocumentação do sistema digestório *in situ* e biometria do tubo digestivo com auxílio de paquímetro (Mitutoyo<sup>®</sup>, Japan). Posteriormente procedeu-se a limpeza para retirada de gordura visceral e os órgãos do tubo digestivo (esôfago, estômago e intestino) foram fixados em formalina 10%. A fotodocumentação do material, com vistas ao formato e superfície interna dos órgãos foi realizada com auxílio de estereomicroscópio M50 (Leica<sup>®</sup>, Germany) do Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos, da Faculdade de Ciências da UNESP, Campus de Bauru, SP.

Para o estudo das relações entre o comprimento do intestino e hábito alimentar procedeu-se o cálculo do quociente intestinal ( $Ci$ ) aplicando-se a seguinte fórmula:

$$Ci = Li \cdot Ls^{-1}$$

Onde  $Li$  é o comprimento total do intestino e  $Ls$  é o comprimento padrão dos animais (BÉRTIN, 1958; BALDISSEROTTO, 2009).

Os valores das médias e desvio padrão foram calculados com auxílio do programa Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft<sup>®</sup>, USA).

### 3.3 Histologia

Para os estudos histológicos, fragmentos de tecidos provenientes do esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica) e intestino (anterior, médio, posterior, reto e cecos pilóricos) foram fixados em solução de Karnovsky modificado (glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 4% em tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M) por 24 horas e conservados em álcool 70%. A seguir, o material foi destinado à rotina de inclusão em historesina IC80 HD (Leica<sup>®</sup>, Germany) ou paraplast (Oxford<sup>®</sup>, USA), no Laboratório de

Morfologia de Organismos Aquáticos, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências da UNESP, Campus de Bauru, SP.

Para o procedimento de inclusão em paraplast, as amostras passaram por desidratação em séries graduadas de álcool sendo 3 banhos em álcool 80% (30 minutos cada), 3 banhos em álcool 90% (30 minutos cada), 3 banhos em álcool 95% (30 minutos cada) e 3 banhos em álcool absoluto (30 minutos cada). Posteriormente, passaram por três banhos de xilol (30 minutos cada) e três banhos em paraplast previamente aquecido em estufa e mantido a 60°C (30 minutos cada). Finalmente, o material foi incluído em paraplast líquido (60°C) e mantido em temperatura ambiente para o endurecimento do meio de inclusão. Secções histológicas de 5–7µm de espessura foram obtidas com navalhas descartáveis, em micrótomo rotativo AO-820 (American Optical®, USA).

O procedimento de inclusão em historesina seguiu as seguintes etapas: após a fixação do material as amostras foram desidratadas em séries graduadas de álcool, com 3 repetições de 30 minutos cada em álcool 80%, 90%, 95% e álcool absoluto sequencialmente. Em seguida, foram mantidos por 24 horas em solução de pré-infiltração de resina e álcool absoluto na proporção 1:1. A seguir, as amostras permaneceram por 24 horas em solução de infiltração de resina para posteriormente serem incluídas em histomoldes contendo resina com solução endurecedora. Os histomoldes foram mantidos por 48 horas em estufa (60°C) para completar a polimerização da resina. Secções histológicas de 1-3µm de espessura foram realizadas com navalhas de vidro, em micrótomo automático RM2265 (Leica®, Germany).

As secções histológicas de historesina foram submetidas à rotina de coloração com Azul de Toluidina a 1% (AT) ou Hematoxilina/Eosina (HE) (BANCROFT e GAMBLE, 2002). As secções histológicas de paraplast foram submetidas a rotina de coloração com Tricrômico de Masson (TM) ou HE. A documentação do material foi realizada com auxílio de fotomicroscópio BX50 (Olympus®, Japan).

### **3.4 Histoquímica de mucossubstâncias**

Fragmentos de tecidos do esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica) e intestinos anterior, médio, posterior, reto e cecos pilóricos foram fixados em solução de Bouin (75ml de solução saturada de ácido pícrico, 25ml de formol e 5ml de ácido acético) e destinados à rotina de inclusão em paraplast (Oxford<sup>®</sup>, USA) historesina IC80 HD (Leica<sup>®</sup>, Germany), assim como as amostras destinadas histologia (seção 3.3). Secções histológicas de 2-6µm de espessura foram submetidos à rotina histoquímica para detecção de mucossubstâncias.

Os estudos histoquímicos foram realizados por meio de reações com Ácido Periódico de Schiff (PAS), Alcian Blue (AB pH 1,0 e pH 2,5) e AB (pH 2,5) + PAS, conforme preconizado por Cao e Wang (2009) e Faccioli et al. (2014). As reações com PAS permitiram evidenciar a presença de mucossubstâncias neutras, que possuem grupo glicol em suas estruturas. As reações com AB em diferentes pHs permitiram visualizar a presença de mucossubstâncias ácidas e distingui-las em sulfatadas e carboxiladas (JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983). Segundo os autores, AB (pH 1,0) reage com mucossubstâncias ácidas fortemente sulfatadas, enquanto que AB (pH 1,7 a 3,2) reage com mucossubstâncias carboxiladas.

As preparações foram analisadas e fotodocumentadas com o auxílio de microscópio BX50 (Olympus<sup>®</sup>, Japan), no Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências da UNESP, Campus de Bauru, SP.

### **3.5 Microscopia eletrônica de varredura**

Para estudos de microscopia eletrônica de varredura, fragmentos esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica) e intestino anterior, médio, posterior, reto e cecos pilóricos foram pré-fixados em solução de Karnovsky modificado

(glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 4% em tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M), para posterior análise da superfície interna desses órgãos, conforme preconizado por Faccioli et al. (2015). As amostras foram pós-fixadas em solução tamponada de tetróxido de ósmio a 1% (tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M) durante 2 horas em câmara escura. Após desidratação em séries graduadas de concentrações crescentes de álcool etílico (70%, 80%, 90%, 95% e álcool absoluto), as amostras passaram pelo secador de ponto crítico e então foram montadas em bases metálicas. Para o posicionamento dos fragmentos sob as bases, utilizou-se lupa SD30 (Olympus<sup>®</sup>, Japan) e pinça fina. Após a colagem do material sob as bases procedeu-se a metalização com uma mistura coloidal de ouro-paládio. A análise e fotodocumentação foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Quanta 200 (Fei Company<sup>®</sup>, USA), do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

### **3.6 Microscopia eletrônica de transmissão**

Para análise das características ultraestruturais do epitélio de revestimento do tubo digestivo, os fragmentos de tecidos de esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica) e intestino anterior, médio, posterior, reto e cecos pilóricos foram fixados em solução de Karnovsky modificada (glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 4% em tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M) e destinados a rotina de microscopia eletrônica de transmissão do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, SP. O material foi pós-fixado em solução de tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato pH 7,2 e 0,2M durante 3 horas, desidratado e incluído em resina Araldite (Poliscience<sup>®</sup>, USA). A seguir, secções de 0,5µm foram obtidas em micrótomo automático RM2265 (Leica<sup>®</sup>, Germany) e coradas com Azul de Toluidina para escolha de campos. Posteriormente, secções de 500 a 700Å foram obtidas em ultramicrótomo Ultracut UCT (Leica<sup>®</sup>, Germany), equipado com navalha de diamante. Os cortes foram então montados em telas de cobre e contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo. A análise e fotodocumentação foi realizada em microscópio eletrônico de transmissão Tecnai Spirit (Fei

Company<sup>®</sup>, USA) do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

### **3.7 Detecção da enzima fosfatase alcalina**

Fragmentos do intestino foram fixados por uma hora, a 4°C em solução glutaraldeído 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2 com sacarose 5%. Após a fixação os fragmentos foram lavados em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, com sacarose 5%, incubados a 37°C durante 1 hora em solução de 25mg de citidina-5'-monofosfato diluída em 12ml de água destilada, 10ml de tampão Tris-maleato 0,1M, pH 8,0 e 3ml nitrato de chumbo 1% (ROBINSON e KARNOVSKY, 1983). Após a incubação, os fragmentos foram lavados uma vez em solução Tris-maleato 0,1M, pH 8,0 e uma vez em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, com sacarose 5%. Posteriormente, foram refixados em solução glutaraldeído 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%, durante 2 horas em câmara escura, lavados em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2 e contrastados em bloco em solução de uranila 2% em solução aquosa durante duas horas. Então foi feita a desidratação em séries crescentes de acetona e a inclusão em resina Araldite. Os cortes ultrafinos foram observados e documentados sem contrastação. Para o controle negativo, o substrato do meio de incubação foi omitido. O material foi analisado e fotodocumentado em microscópio eletrônico de transmissão Tecnai Spirit (Fei Company<sup>®</sup>, USA) do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

## *4. RESULTADOS*

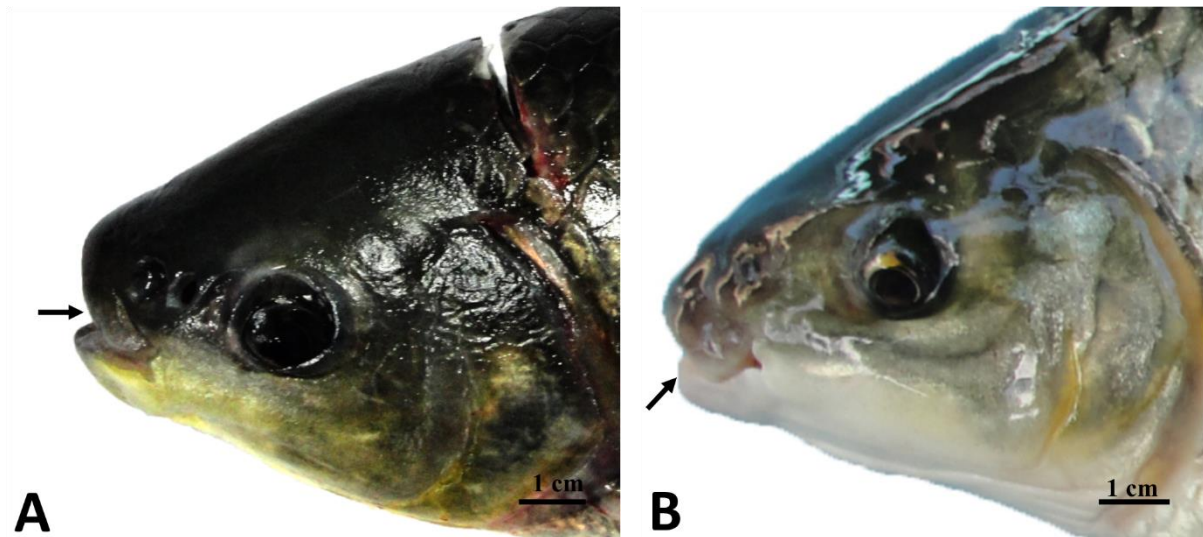


#### 4.1 Observações gerais

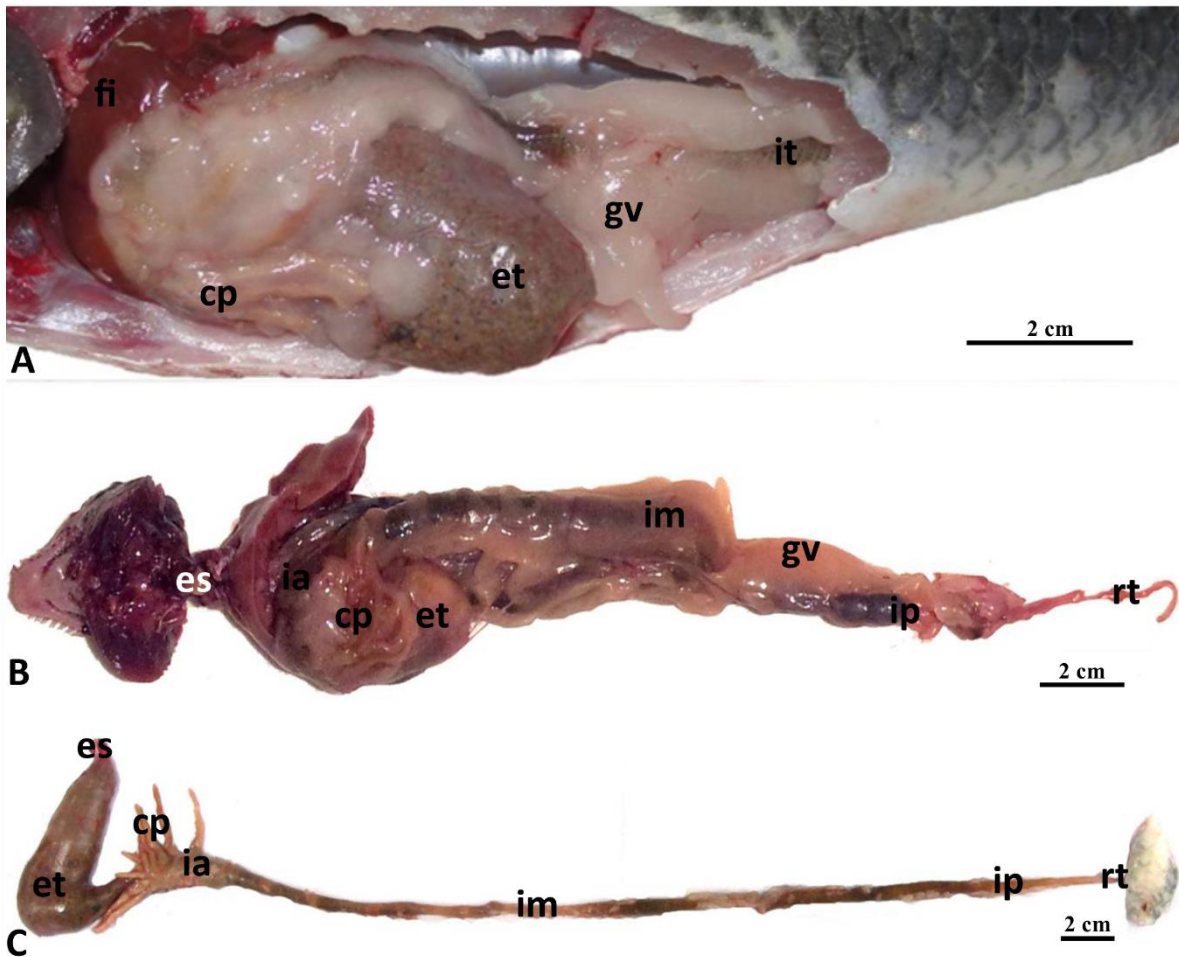
As espécies de *Leporinus* utilizadas nesse estudo foram identificadas por observação dos padrões de cores, posição da boca e arranjo dentário (Tab. 1). A boca de *L. macrocephalus* apresentou-se em posição terminal, enquanto que para *L. elongatus* e *L. obtusidens* a boca apresentou-se em posição subterminal (Fig. 2). O arranjo dentário das três espécies estudadas foi 3/3, ou seja, três dentes em cada pré-maxila e três dentes no dentário. Também foram observados dentes faríngeos bicuspídeos.

O tubo digestivo das três espécies estendeu-se ao longo da cavidade corpórea, sendo observado grande acúmulo de gordura visceral (Figs. 3 A e B). Após a limpeza para exposição dos órgãos pode-se observar o esôfago tubular curto, o estômago cecal em formato de Y ricamente vascularizado e o intestino composto por alças com presença de cecos pilóricos (Figs. 3 B e C). Em *L. elongatus* e *L. obtusidens* foram encontrados 12 cecos e em *L. macrocephalus* 14 cecos pilóricos.

O tubo digestivo foi dividido para fins descritivos, nas seguintes regiões: esôfago (regiões cranial e caudal), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica), e intestino dividido em: intestino anterior, compreendido desde o esfíncter pilórico até o final da primeira alça intestinal; intestino médio composto por 3 alças; intestino posterior situado após a quarta alça, apresentando-se retilíneo; e reto, porção final do intestino abrindo-se no ânus. Os cecos pilóricos foram considerados no intestino anterior, sendo localizados na região cranial da primeira alça intestinal. Histologicamente, a parede dos órgãos do tubo digestivo constituiu-se por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa.



**Figura 2.** Vista lateral da região da cabeça evidenciando a orientação da boca. As setas indicam o sentido da abertura da fenda bucal. **A.** *Leporinus macrocephalus*, boca em posição terminal. **B.** *L. obtusidens*, boca em posição subterminal.



**Figura 3.** Estrutura geral do tubo digestivo. **A.** Vista ventro-lateral da cavidade corpórea de *L. macrocephalus*, mostrando grande quantidade de gordura visceral (gv) e o posicionamento dos órgãos: fígado (fi), estômago (et), cecos pilóricos (cp) e intestino (it). **B.** Tubo digestivo de *L. obtusidens* com destaque para o posicionamento dos órgãos do tubo digestivo: esôfago (es), estômago (et), intestino anterior (ia), cecos pilóricos (cp), intestino médio (im), intestino posterior (ip) e reto (rt). Notar a grande quantidade de gordura visceral (gv). **C.** Tubo digestivo de *L. elongatus* após a limpeza da gordura visceral para análise morfométrica do intestino anterior (ia), médio (im), posterior (ip) e reto (rt); contagem dos cecos pilóricos (cp) e caracterização anatômica do esôfago (es) e estômago (et).

**Tabela 1.** Identificação taxonômica de *Leporinus elongatus*, *Leporinus macrocephalus* e *Leporinus obtusidens*.

Característica	Espécie		
	<i>Leporinus elongatus</i>	<i>Leporinus macrocephalus</i>	<i>Leporinus obtusidens</i>
<b>Posição da boca</b>	subterminal	terminal	subterminal
<b>Arranjo dentário</b>	3/3	3/3	3/3
<b>Máculas</b>	3 na linha lateral	3 pouco visíveis	3 na linha lateral
<b>Faixas dorsais</b>	8	pouco visíveis	8 pouco visíveis
<b>Nadadeira peitoral</b>	amarelo	cinza amarelado	amarelo avermelhado
<b>Nadadeira ventral</b>	amarelo	laranja para amarelo	amarelo avermelhado
<b>Nadadeira anal</b>	amarelo escuro para laranja	laranja para amarelo	amarelo

## 4.2 Esôfago

O esôfago das três espécies estudadas apresentou-se como um órgão tubular curto e muscular que conecta a cavidade bucofaringea ao estômago (Figs. 3 B e C). Internamente, foram observadas pregas longitudinais delgadas em zigue-zague (Figs. 4 A e 6 A-C). As pregas esofágicas foram contínuas com as pregas da região cárdica do estômago (Fig. 4 B).

A camada mucosa esofágica apresentou epitélio estratificado pavimentoso, composto principalmente por células epiteliais e células caliciformes (Figs. 5 e 7). As células epiteliais foram observadas em todos os estratos do epitélio sendo colunares e/ou cúbicas na região basal do epitélio, delgadas entre as células caliciformes e achatadas na região apical do epitélio (Fig. 7). Estas células formaram uma camada apical contínua de revestimento ao longo da superfície luminal esofágica, sendo interrompida pela abertura das células caliciformes (Fig. 8 B). Na superfície do epitélio do esôfago observou-se microssaliências digitiformes, formadas a partir da membrana plasmática apical das células epiteliais (Figs. 6 D-F e 7 A-C). O núcleo das células epiteliais foi localizado em posição central e acompanhou o formato celular (Fig. 7). No citoplasma das células epiteliais, observou-se a presença de mitocôndrias principalmente com formato arredondado e retículo endoplasmático rugoso pouco desenvolvido. A membrana plasmática das células adjacentes apresentou numerosas junções intercelulares, principalmente desmossomos e interdigitações (Figs. 7 C e D).

As células caliciformes apresentaram-se alongadas e justapostas formando uma camada contínua no epitélio esofágico (Fig. 8 A). Em geral, foi observado núcleo arredondado em posição basal com predomínio de eucromatina (Figs. 8 C e D). No citoplasma perinuclear foi observado retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido (Fig. 8 D), enquanto que as regiões média e apical se encontravam repletas de grânulos de secreção, preenchendo quase todo citoplasma das células caliciformes (Figs. 8 A e B). Esses grânulos apresentaram metacromasia ao Azul de Toluidina e foram corados pela Hematoxilina (Figs. 5 B e C). Em

microscopia eletrônica de transmissão foi possível observar que os grânulos de secreção apresentaram formato arredondado e estavam envoltos por membrana (Figs. 8 A e B).

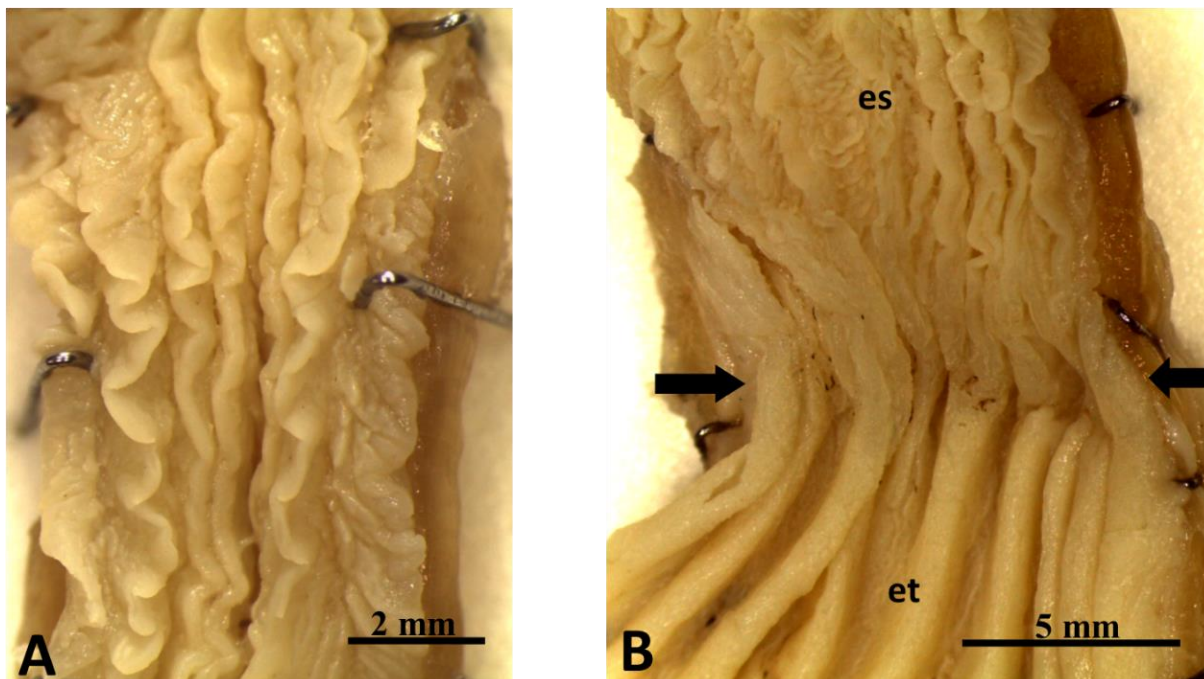
Os estudos histoquímicos, revelaram forte reação ao PAS nos grânulos das células caliciformes em todo o epitélio esofágico para *L. elongatus* e *L. obtusidens* (Fig. 9 A). Em *L. macrocephalus* as células caliciformes da região cranial reagiram moderadamente ao PAS (Fig. 9 B), enquanto que na região caudal essa reação foi forte (Tab. 2). Por sua vez, as reações ao AB (pH 2,5) foram fortes na região cranial do esôfago de *L. elongatus* e *L. obtusidens*, porém em *L. macrocephalus* a reação foi moderada (Tab. 2 e Fig. 9 C). Na região caudal do esôfago das três espécies estudadas a reação foi fraca ao AB (pH 2,5). A reação para AB (pH 1,0) apresentou-se moderada na região cranial e fraca na região caudal do esôfago dos três *Leporinus* estudados (Tab. 2). Ainda, por meio da reação AB (pH 2,5) + PAS, as células caliciformes apresentaram coloração violeta ou parcialmente azul e/ou avermelhada, indicando associação de mucossubstâncias (Fig. 9 D).

Em *L. macrocephalus*, na porção cranial do esôfago próximo a transição com a bucofaringe, foram evidenciados botões gustativos esparsos (Fig. 10 A). Esses botões apresentaram-se como corpúsculos ovais dispendo-se da região basal à região apical do epitélio (Fig. 10 D e E). A superfície luminal dos botões gustativos apresentou microvilosidades (Figs. 10 B e C). Ainda, essas estruturas mostraram reação moderada ao PAS na sua porção apical (Fig. 10 E).

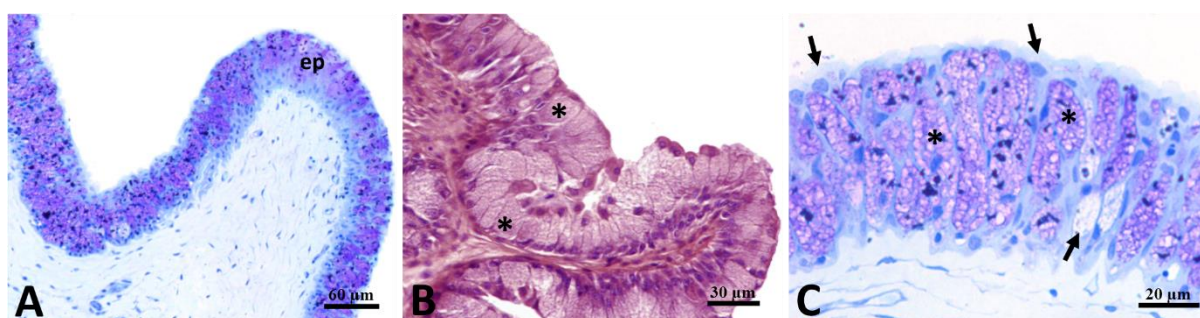
O esôfago das três espécies estudadas não apresentou camada muscular da mucosa e, assim sendo, não foi possível diferenciar a lâmina própria da submucosa. Nessa região foi observada uma camada de tecido conjuntivo denso, com grande concentração de fibras conjuntivas e também uma espessa camada de tecido adiposo (Figs. 6 A-B e 11 A). A camada muscular esofágica apresentou-se composta por fibras estriadas com duas orientações distintas, sendo uma camada longitudinal interna e uma camada circular externa (Figs. 11 B-D). Ainda, externamente à camada muscular, foi visualizado em *L. macrocephalus* a presença de mais uma

camada de tecido adiposo seguida pela camada serosa, constituída por uma região de tecido conjuntivo denso e revestida por um epitélio simples pavimentoso. Em *L. elongatus* e *L. obtusidens*, a camada muscular apresentou-se seguida pela camada serosa, sem a presença de tecido adiposo (Fig. 11 C).

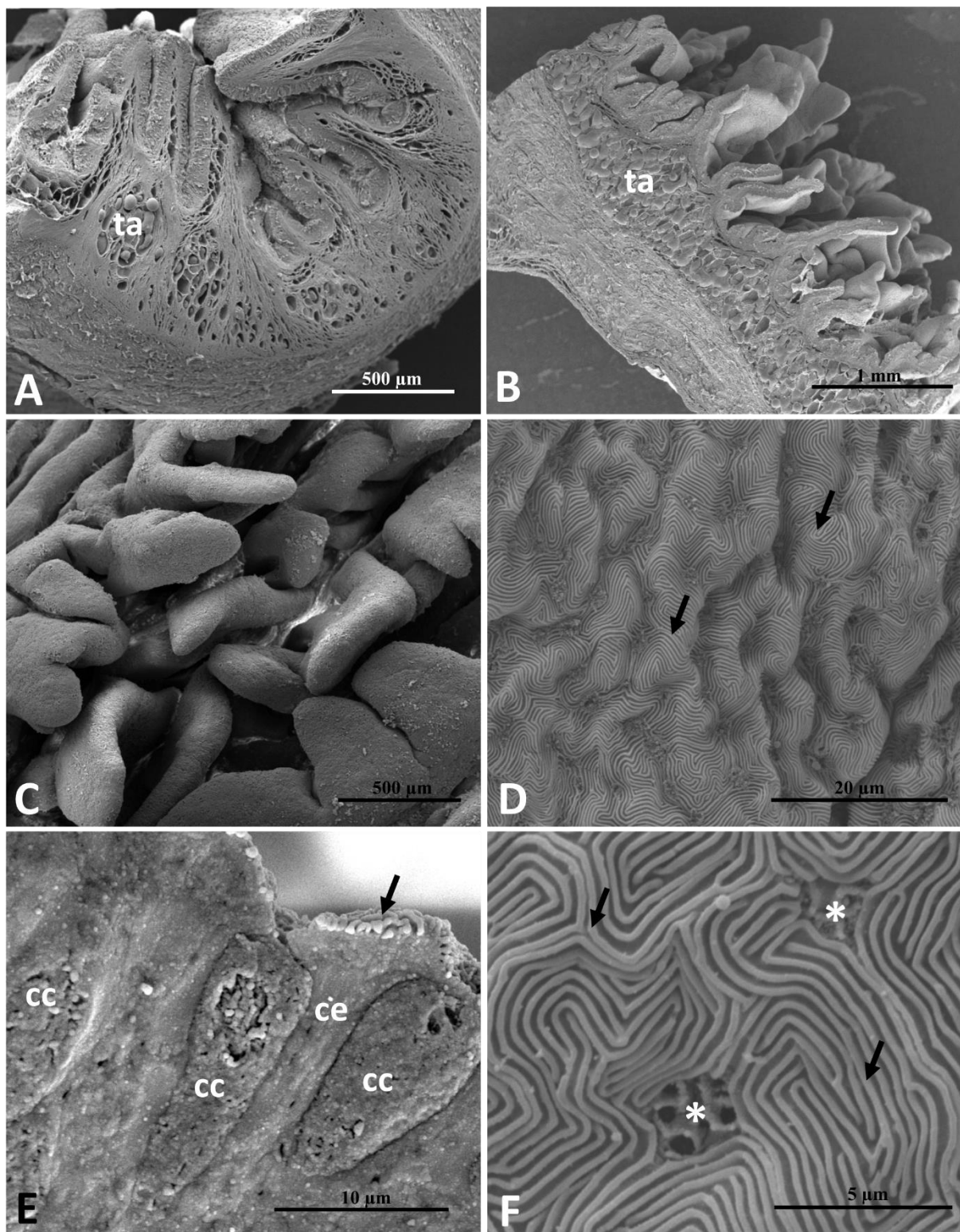
A transição do esôfago para o estômago foi claramente perceptível nas três espécies estudadas apresentando uma constrição entre os órgãos (Fig. 4 B). Histologicamente, a transição foi evidenciada pela alteração abrupta do epitélio esofágico estratificado com grande número de células calciformes, para epitélio gástrico simples colunar (Figs. 12 A-D). Além disso, observou-se a diminuição gradual do tecido adiposo e a camada muscular passou de estriada para lisa. Em *L. elongatus*, um feixe de fibras musculares estriadas pode ser observado até o final da região cárdica do estômago (Figs. 12 E-F).



**Figura 4.** Estereomicrografias da superfície interna do esôfago de *Leporinus macrocephalus*. **A.** Destaque para as pregas longitudinais em zigue-zague. **B.** Destaque para a constrição (setas) entre esôfago (es) e região cárdica do estômago (et). Notar a diferença entre as pregas esofágicas mais delgadas em zigue-zague, e as pregas da região cárdica do estômago mais espessas.

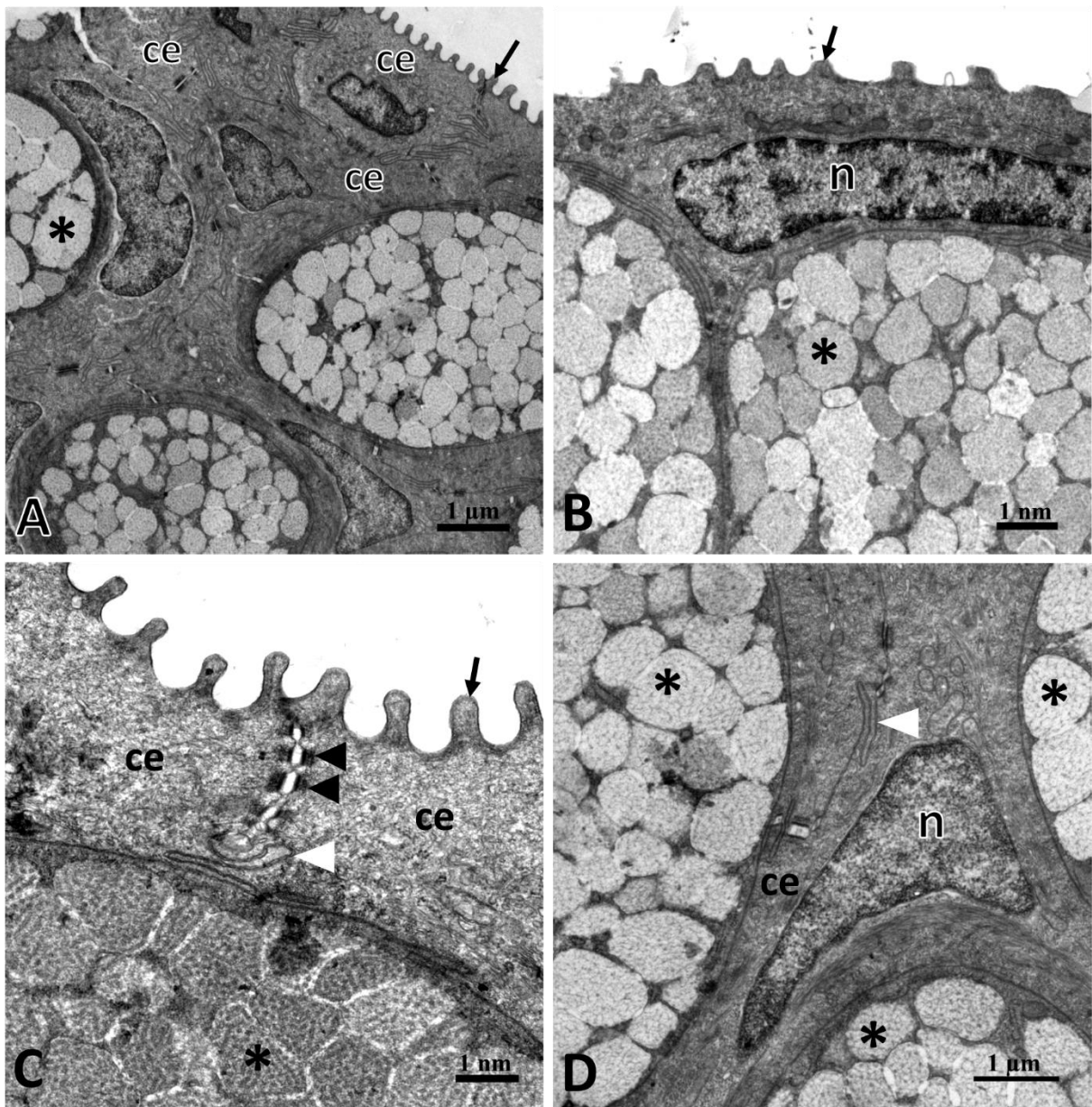


**Figura 5.** Micrografias de cortes transversais do esôfago. **A.** Vista geral do epitélio de revestimento esofágico em *Leporinus obtusidens* (ep) (AT). **B.** Detalhe do epitélio de revestimento estratificado pavimentoso com destaque para as células caliciformes (asteriscos) coradas pela Hematoxilina em *L. macrocephalus* (HE). **C.** Detalhe do epitélio de revestimento estratificado pavimentoso, composto por células epiteliais (setas) e células caliciformes (asteriscos) em *L. obtusidens* (AT).

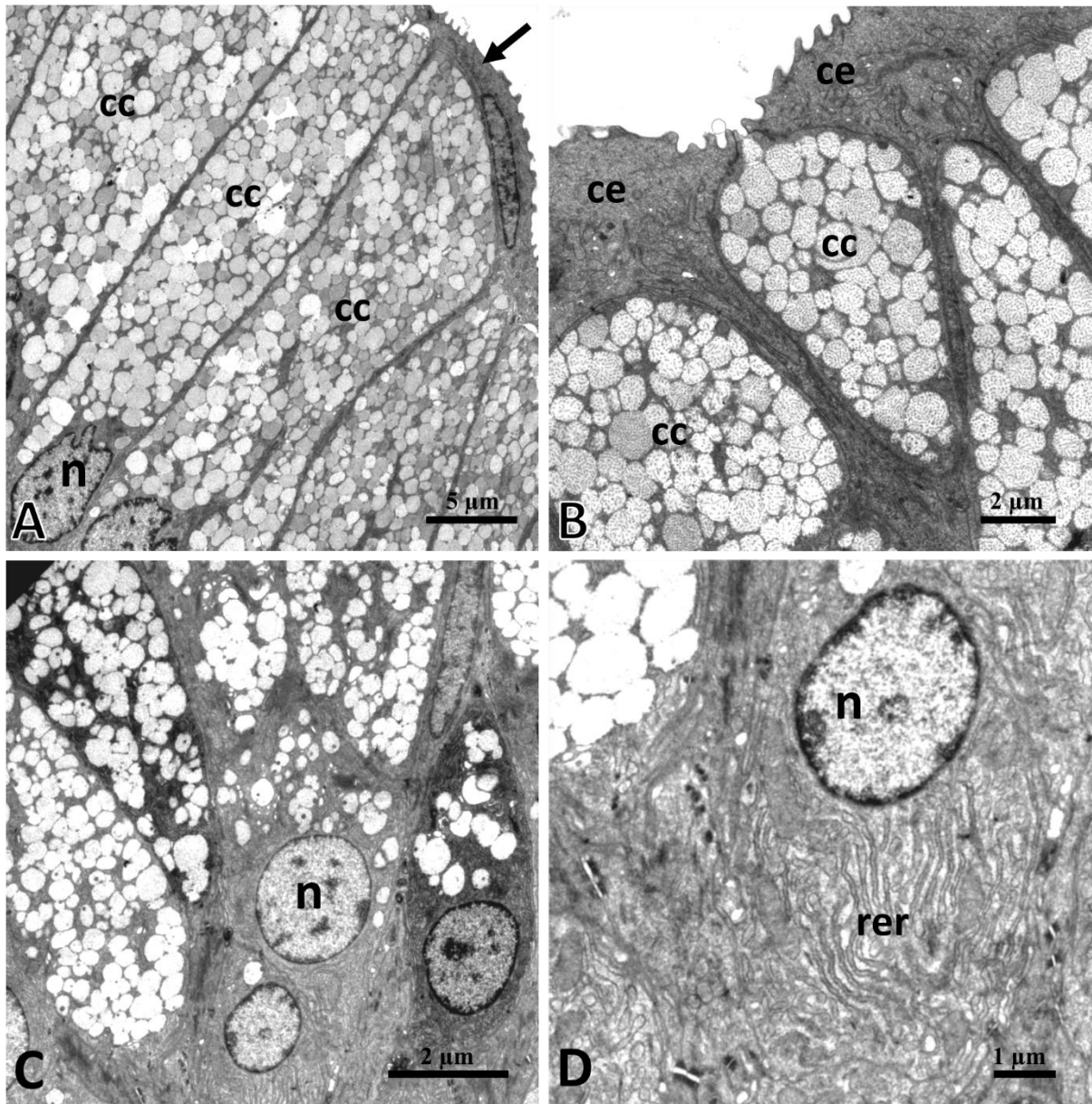


**Figura 6.** Eletromicrografias de varredura do esôfago. **A.** Corte transversal da porção cranial do esôfago de *Leporinus obtusidens*. Destaque para a camada de tecido adiposo (ta). **B.** Corte longitudinal da porção caudal do esôfago de *L. elongatus*. Destaque para a camada de tecido adiposo (ta). **C.** Detalhe de uma prega do esôfago de *L. macrocephalus*. **D.** Superfície das células epiteliais do esôfago de *L. elongatus* evidenciando suas microssaliências digitiformes (setas). **E.** Epitélio estratificado pavimentoso do esôfago de *L. obtusidens*, composto por células epiteliais (ce) e células caliciformes (cc). Notar as microssaliências digitiformes nas células epiteliais superficiais (seta). **F.** Superfície epitelial do esôfago de *L. elongatus*. Destaque para a abertura das células caliciformes (asteriscos) e microssaliências digitiformes (setas) da superfície das células epiteliais.

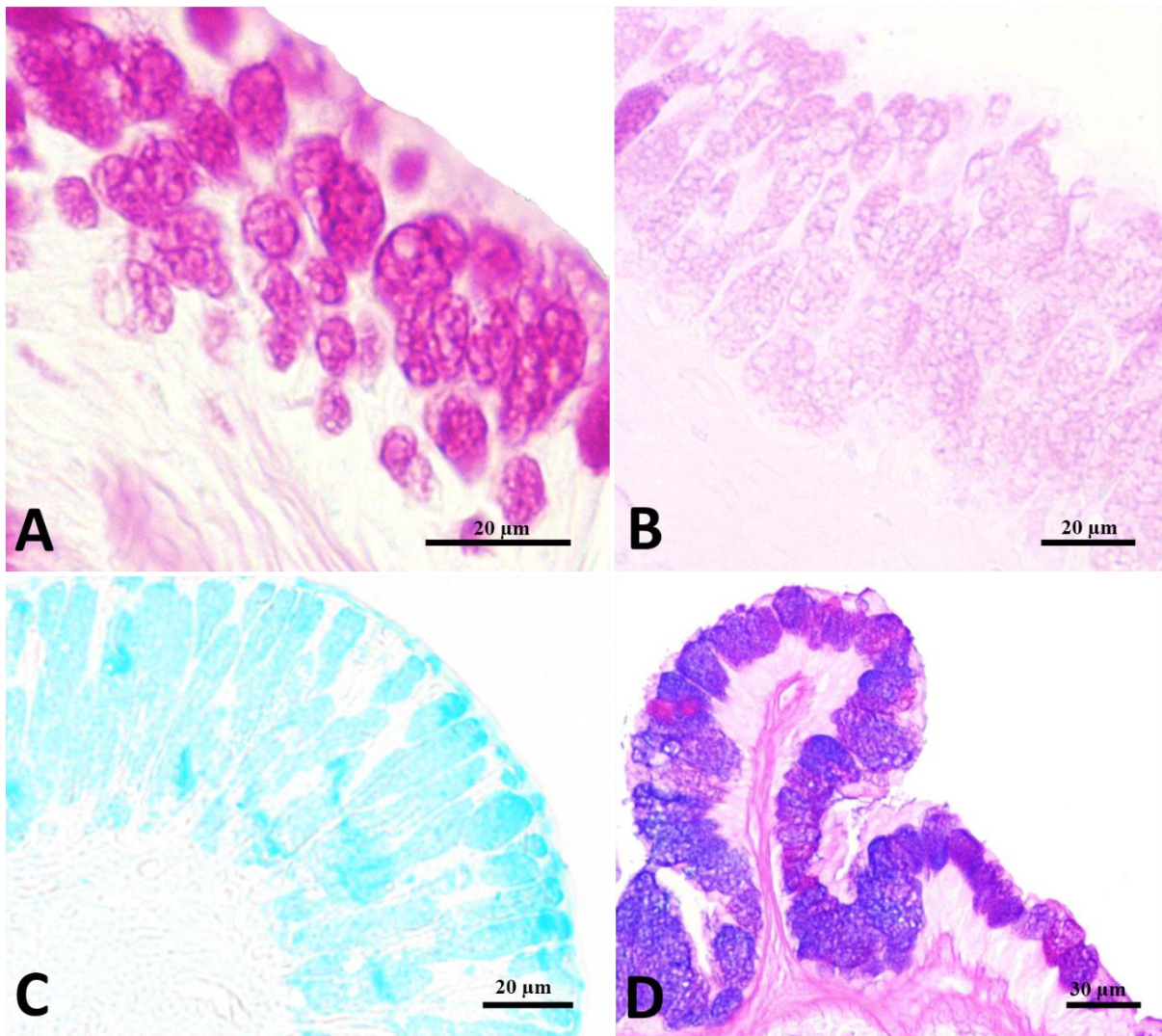




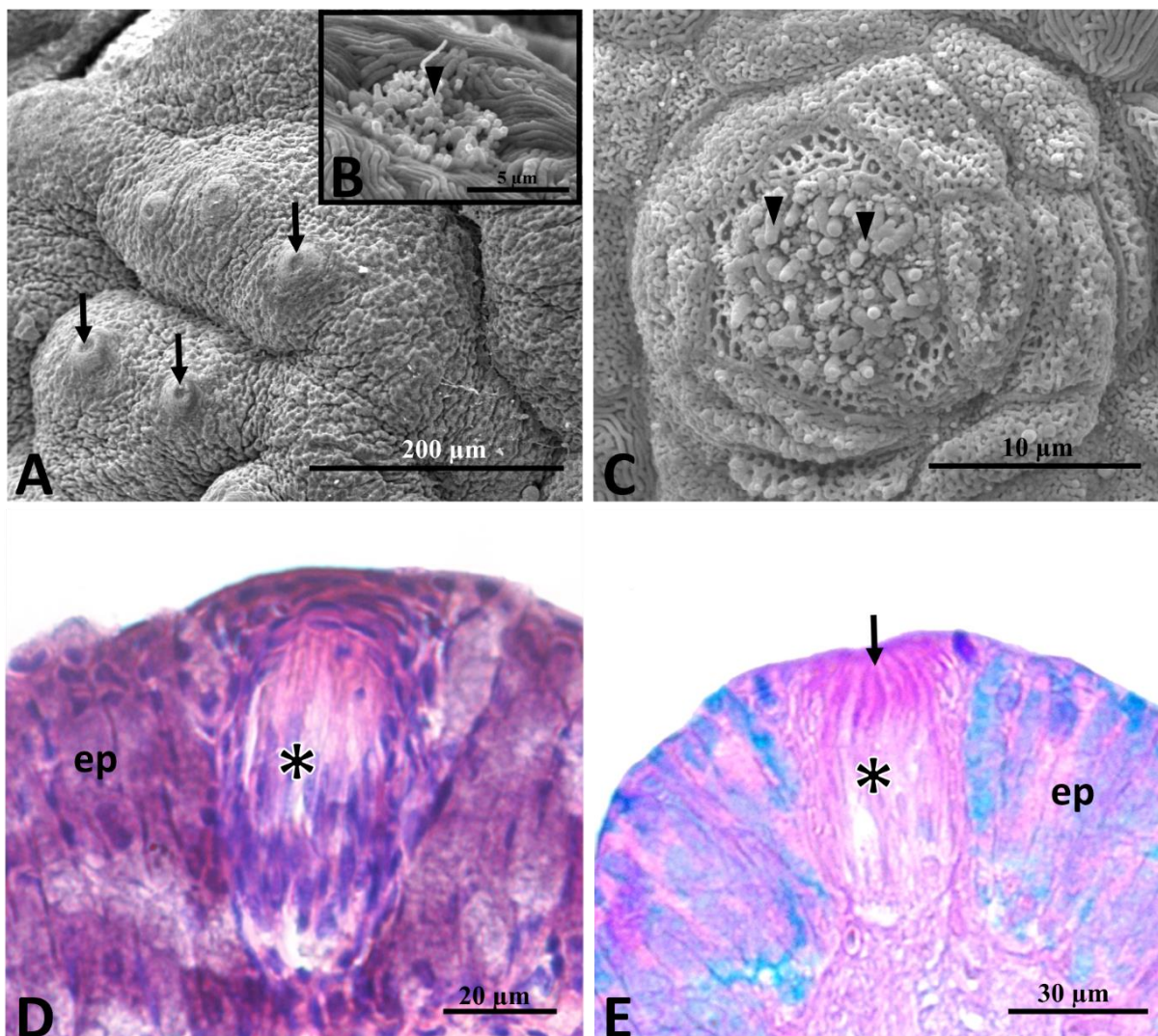
**Figura 7.** Eletromicrografias de transmissão do esôfago de *Leporinus macrocephalus* com destaque para as células epiteliais. **A.** Células epiteliais (ce) em vários estratos do epitélio esofágico. **B.** Célula epitelial achatada voltada para o lúmen esofágico. Notar núcleo alongado (n) e microssaliências digitiformes (seta). **C.** Destaque para as junções de membrana entre as células do epitélio esofágico. Desmossomos (cabeças de setas pretas) e interdigitações de membrana (cabeça de seta branca). **D.** Célula epitelial (ce) entre as células caliciformes (asteriscos) na região basal do epitélio. Notar o núcleo irregular (n) da célula epitelial e as interdigitações de membrana (cabeça de seta).



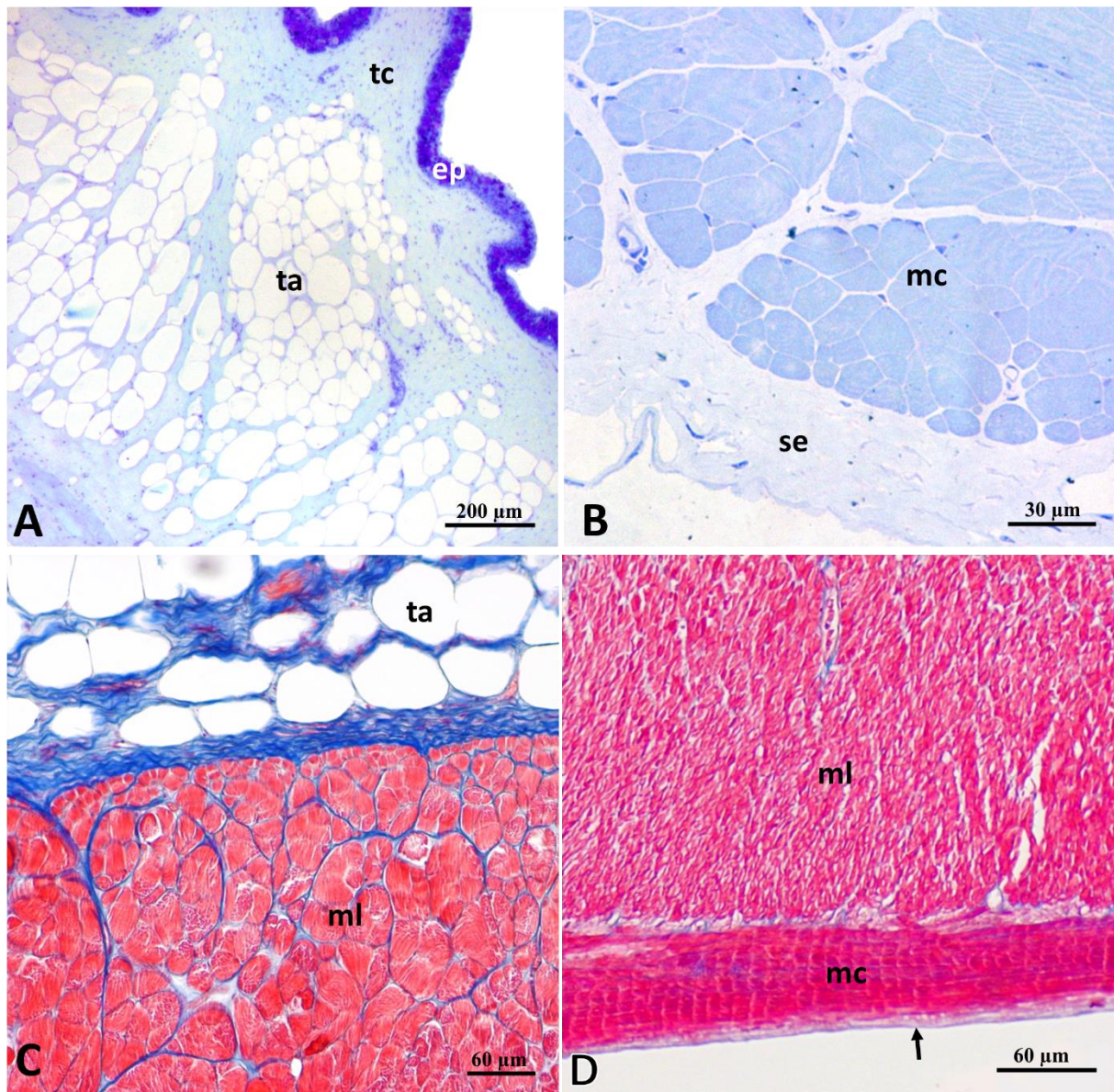
**Figura 8.** Eletromicrografias de transmissão de esôfago de *Leporinus elongatus* com destaque para as células caliciformes. **A.** Células caliciformes (cc) alongadas formando uma camada contínua no epitélio esofágico e célula epitelial achatada com microssaliências digitiformes (seta). **B.** Região apical da célula caliciforme (cc) com abertura entre as células epiteliais (ce). **C.** Região basal da célula caliciforme com destaque para a forma arredondada do núcleo (n) em posição basal. **D.** Região basal da célula caliciforme com destaque para o retículo endoplasmático rugoso (rer) e núcleo arredondado (n).



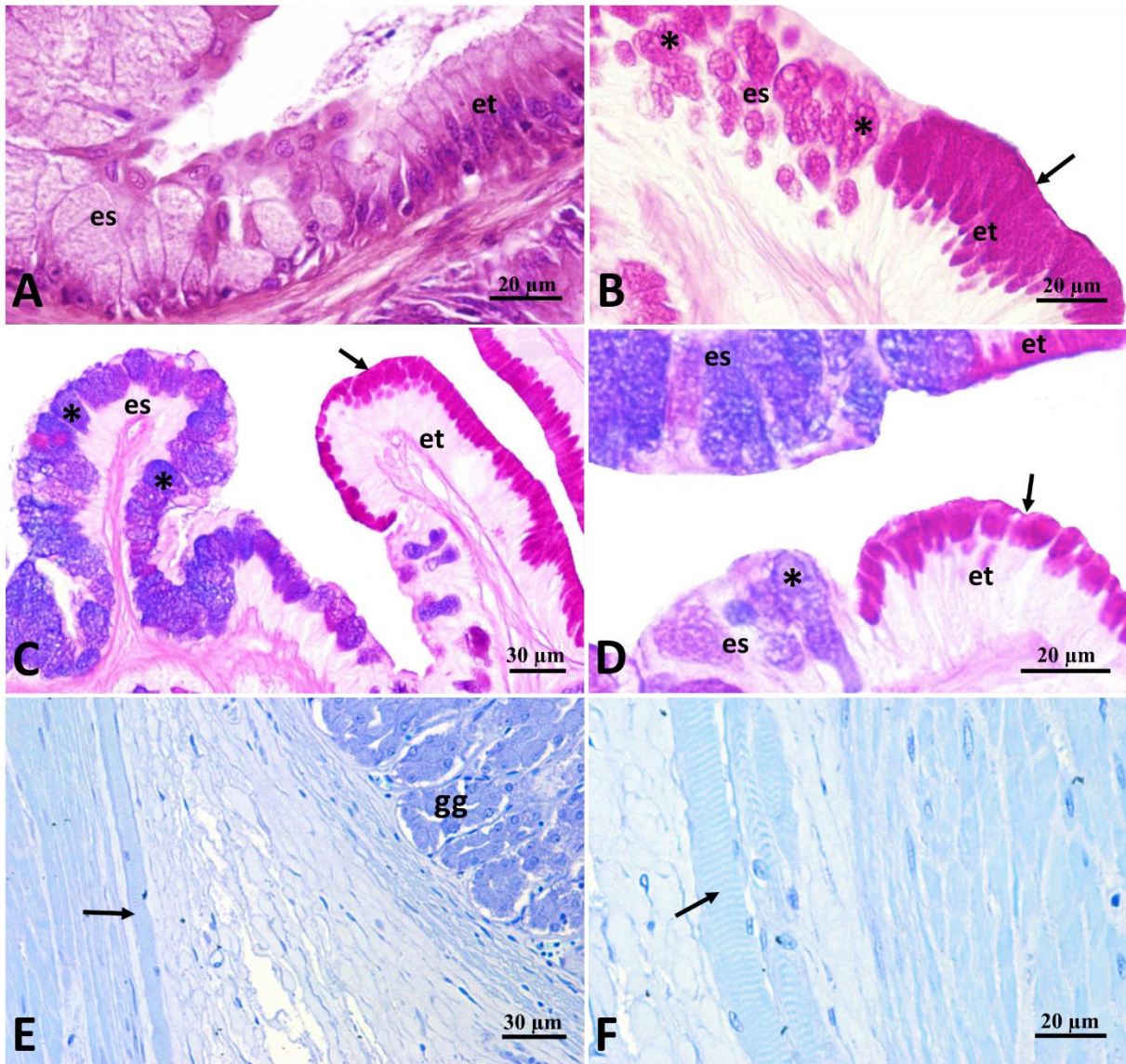
**Figura 9.** Reações histoquímicas para detecção de mucossustâncias no epitélio esofágico. **A.** Porção posterior do esôfago de *Leptorinus elongatus* evidenciando reação forte ao PAS nas células caliciformes. **B.** Porção anterior do esôfago de *L. macrocephalus* evidenciando reação moderada ao PAS nas células caliciformes. **C.** Porção anterior do esôfago de *L. obtusidens* evidenciando reação forte ao AB (pH 2,5) nas células caliciformes. **D.** Associação entre mucossustâncias ácidas e neutras nas células caliciformes da porção posterior do esôfago de *L. elongatus* (AB pH2,5 + PAS).



**Figura 10.** Porção anterior do esôfago de *Leporinus macrocephalus* com destaque para os botões gustativos. **A.** Eletromicrografia de varredura da superfície esofágica evidenciando botões gustativos esparsos (setas). **B e C.** Eletromicrografias de varredura dos botões gustativos com destaque para as microvilosidades (cabeças de setas). **D.** Fotomicrografia do epitélio de revestimento esofágico (ep) evidenciando um botão gustativo (asterisco) (HE). **E.** Fotomicrografia do epitélio esofágico (ep) evidenciando reação PAS positiva na porção apical (seta) do botão gustativo (asterisco) (AB pH 2,5 + PAS).



**Figura 11.** Micrografias do esôfago. **A.** Esôfago de *Leporinus macrocephalus* com destaque para o epitélio (ep), seguido por uma camada de tecido conjuntivo (tc) e uma espessa camada de tecido adiposo (ta) (AT). **B.** Esôfago de *L. elongatus* com destaque para a camada muscular circular externa (mc), seguida serosa (se) (AT). **C.** Esôfago de *L. elongatus* com destaque para a camada de tecido adiposo (ta) seguida pela muscular longitudinal interna (ml) (TM). **D.** Esôfago de *L. obtusidens* com destaque para a camada muscular longitudinal interna (ml) e circular externa (mc), seguida pela camada serosa (seta) (TM).



**Figura 12.** Micrografias da transição esôfago/estômago. **A.** Corte transversal evidenciando o epitélio estratificado pavimentoso no esôfago (es) seguido pelo epitélio simples colunar do estômago (et) em *Leporinus obtusidens* (HE). **B.** Corte transversal evidenciando reação forte ao PAS nas células caliciformes esofágicas (asteriscos) e nas células epiteliais gástricas (setas) em *L. obtusidens*. **C e D.** Cortes transversais evidenciando células caliciformes esofágicas com associação de mucossustâncias neutras e ácidas (asteriscos) e células epiteliais gástricas com reação apenas para mucossustâncias neutras (setas) em *L. elongatus* (AB pH 2,5 + PAS). **E e F.** Feixe de fibras estriadas (seta) observado na região cárdica do estômago de *L. elongatus* (AT).

**Tabela 2.** Análises histoquímicas de mucosubstâncias nas diferentes regiões do tubo digestivo de *Leporinus elongatus*, *L. obtusidens* e *L. macrocephalus*.

Espécie/ Reação Histoquímica	Regiões									
	Esôfago Cranial	Esôfago Caudal	Estômago	Estômago*	Estômago Gástricas	Fossetas	Intestino Anterior/Cecos	Intestino Médio	Intestino Posterior	
<b><i>L. elongatus e L. obtusidens</i></b>										
PAS	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
AB pH 2,5	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
AB pH 1,0	++	+	-	+	-	-	+	+++	+++	+++
AB(pH2,5) + PAS	++	+	-	++	++	++	++	+++	+++	+++
<b><i>L. macrocephalus</i></b>										
PAS	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
AB pH 2,5	++	+	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
AB pH 1,0	++	+	-	+	-	-	+	+++	+++	+++
AB(pH 2,5) + PAS	++	+	-	++	++	++	+	+++	+++	+++
	Células caliciformes	Células caliciformes	Células oxintopepticas	Células epiteliais	Células epiteliais	Células epiteliais	Células caliciformes	Células caliciformes	Células caliciformes	Células caliciformes

Intensidade de reação: forte(+++), moderada(++), fraca(+) e negativa (-)

\* Células epiteliais da região pilórica do estômago

#### 4.4 Estômago

O estômago de *L. macrocephalus*, *L. elongatus* e *L. obtusidens* foi classificado como cecal em formato de Y (Fig. 13 A) e dividido em três regiões: cárdica, com luz ampla e pregas longitudinais bem definidas; fúndica, muito distensível e com pregas espessas; e pilórica, com pregas longitudinais delgadas (Fig. 13). A camada muscular apresentou-se espessa na região pilórica, formando um esfíncter pilórico na transição com o intestino (Fig. 13 D).

A mucosa gástrica apresentou epitélio de revestimento simples colunar (Figs. 14 e 15 B). As células epiteliais apresentaram núcleo basal, com predomínio de cromatina descondensada (Figs. 16 A-C). No citoplasma perinuclear foram identificadas numerosas mitocôndrias alongadas e retículo endoplasmático rugoso (Fig. 16 B). O citoplasma da região média da célula também apresentou grande concentração de mitocôndrias e na região apical foram encontrados grânulos de secreção eletrondensos (Figs. 16 C e E). Adicionalmente, nos estudos sob microscopia eletrônica de varredura observou-se o formato poliédrico na superfície das células epiteliais (Figs. 15 C-D). Nos estudos histoquímicos, os grânulos apicais das células epiteliais apresentaram reação forte ao PAS em todas as regiões do estômago (Figs. 16 D e 19 A-B). Porém, para AB (pH 2,5) a reação foi negativa nas regiões cárdica e fúndica para as três espécies, forte na região pilórica para *L. elongatus* e *L. obtusidens* e moderada para *L. macrocephalus* (Tab. 2 e Fig. 19 E). Para AB (pH 1,0) a reação também foi negativa nas regiões cárdica e fúndica, mas apresentou-se fraca na região pilórica nas três espécies estudadas (Tab. 2). Nas preparações submetidas à reação AB (pH 2,5) + PAS a coloração observada foi violeta, indicando associação entre mucossustâncias neutras e ácidas na região pilórica (Fig. 19 F).

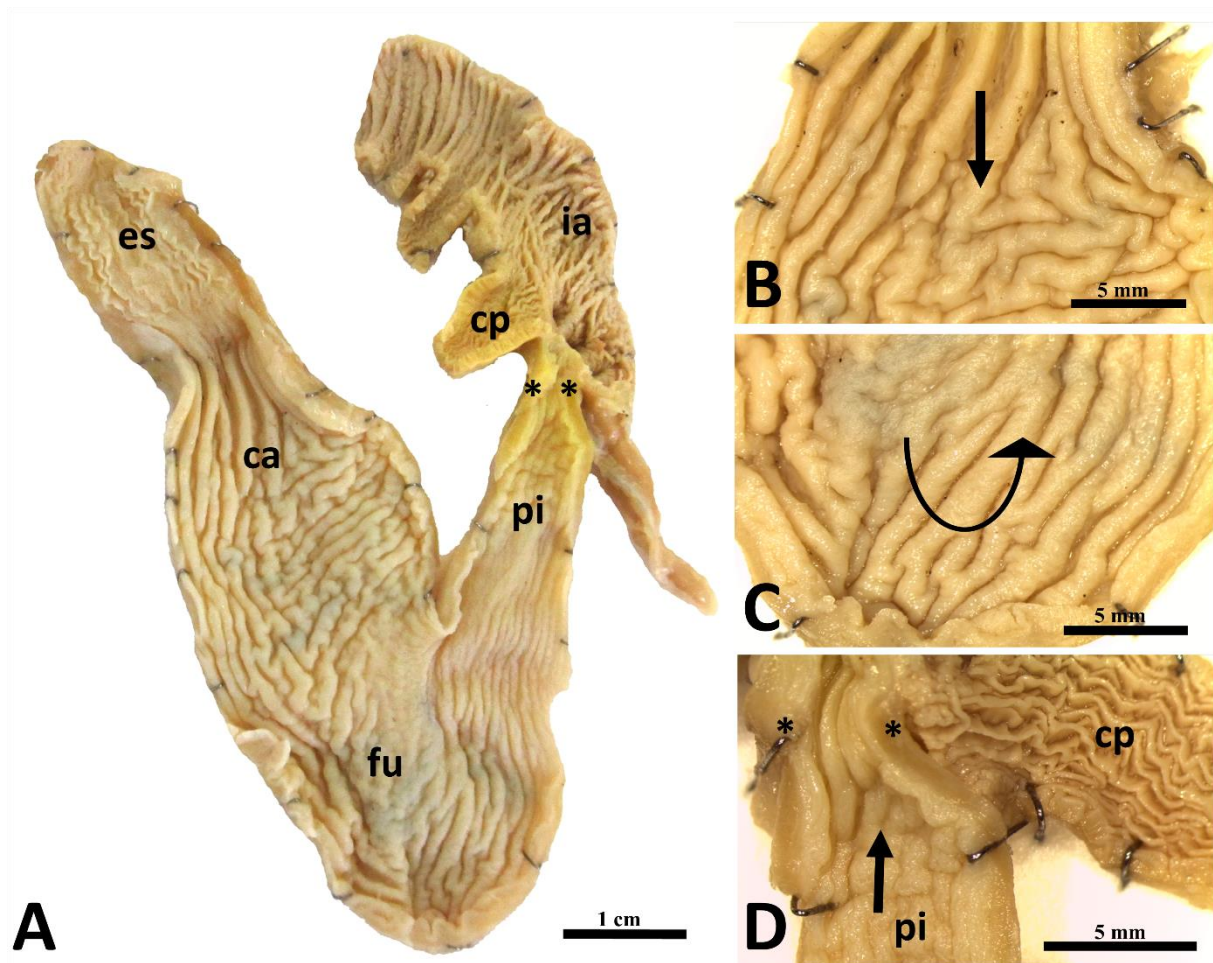
Nas regiões cárdica e fúndica do estômago, o epitélio gástrico apresentou invaginações, formando criptas ou fossetas, onde desembocaram as secreções das glândulas gástricas, localizadas na lâmina própria (Fig. 17). Nas criptas, as células epiteliais apresentaram-se mais baixas com núcleo arredondado (Fig. 14 B) e mucossustâncias com reação forte ao AB (pH 2,5) e ao PAS (Figs. 19 A, C e D). As numerosas glândulas gástricas apresentaram-se tubulares



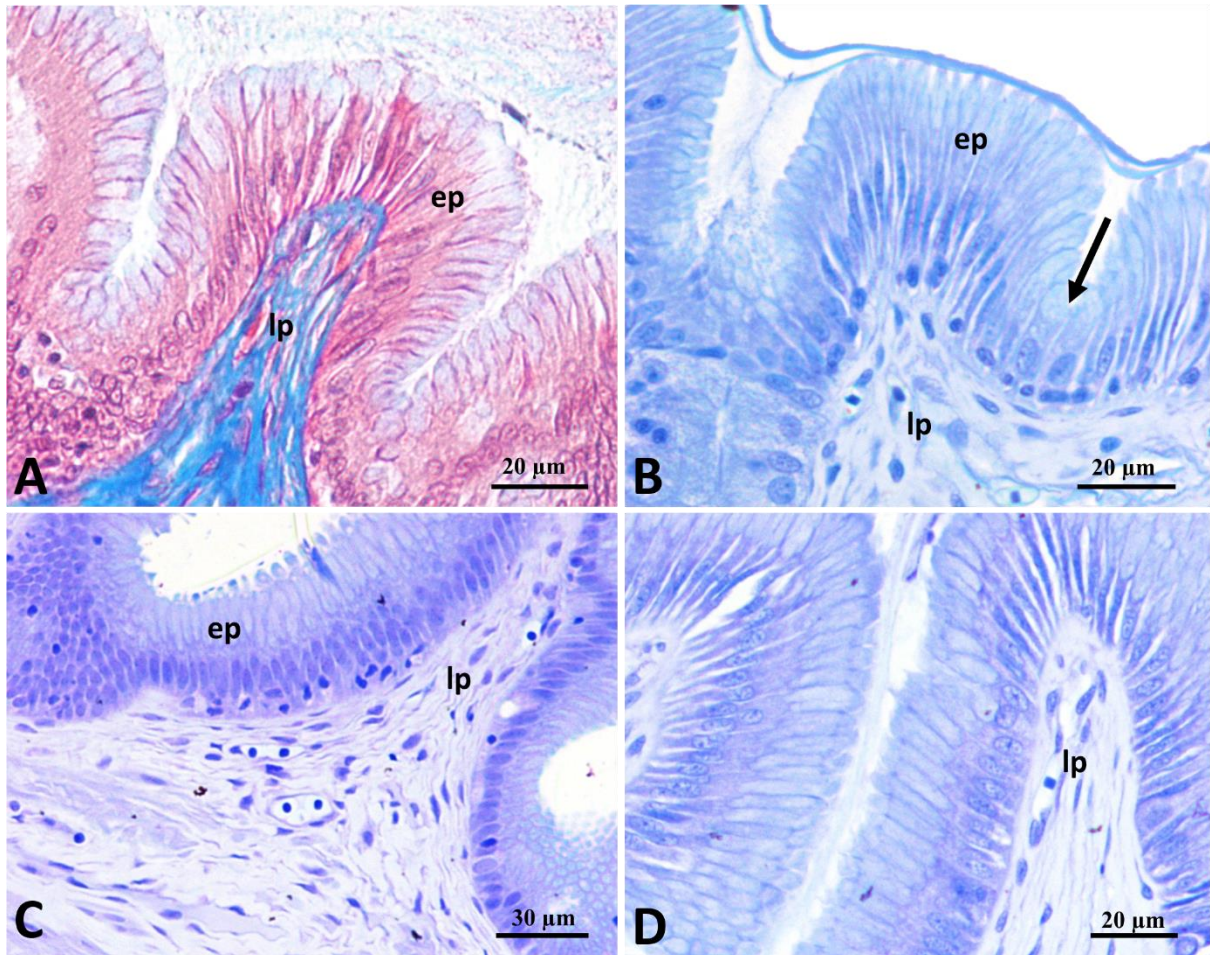
compostas por células oxintopépticas com citoplasma acidófilo (Fig. 17 D). As células oxintopépticas apresentaram formato piramidal, sendo a região basal mais ampla que a região apical (Fig. 18). Essas células apresentaram núcleo arredondado em posição basal e citoplasma com numerosas mitocôndrias alongadas e grande concentração de grânulos de secreção arredondadas com baixa eletrondensidade (Fig. 18). A região apical destas células apresentou microvilosidades e um sistema vesiculotubular composto por reentrâncias da membrana plasmática (Fig. 18 B). Quanto à histoquímica, as glândulas apresentaram reação fraca ao PAS na região apical (Fig. 19 A).

Abaixo da lâmina própria observou-se a camada muscular da mucosa constituída por fibras musculares lisas descontínuas, principalmente com orientação longitudinal (Figs. 20 C e D). Na região cárdica foi possível observar uma camada de tecido adiposo (Figs. 20 E e F), que desapareceu gradativamente em direção a região fúndica. Essa camada de tecido adiposo foi visualizada nas três espécies, porém apresentou-se mais espessa em *L. macrocephalus*. Posteriormente a camada mucosa, foi possível visualizar a camada submucosa composta por tecido conjuntivo, rico em fibras conjuntivas e vasos sanguíneos. Externamente à submucosa, observou-se a camada muscular, composta por fibras musculares lisas com duas orientações: circular interna, e longitudinal externa (Figs. 20 A-D). A camada muscular circular mostrou-se mais espessa que a longitudinal. Além disso, foi observado o espessamento da camada muscular circular na região pilórica (Figs. 20 A e B). Fazendo o revestimento externo do estômago observou-se a camada serosa, composta principalmente por um epitélio pavimentoso simples.

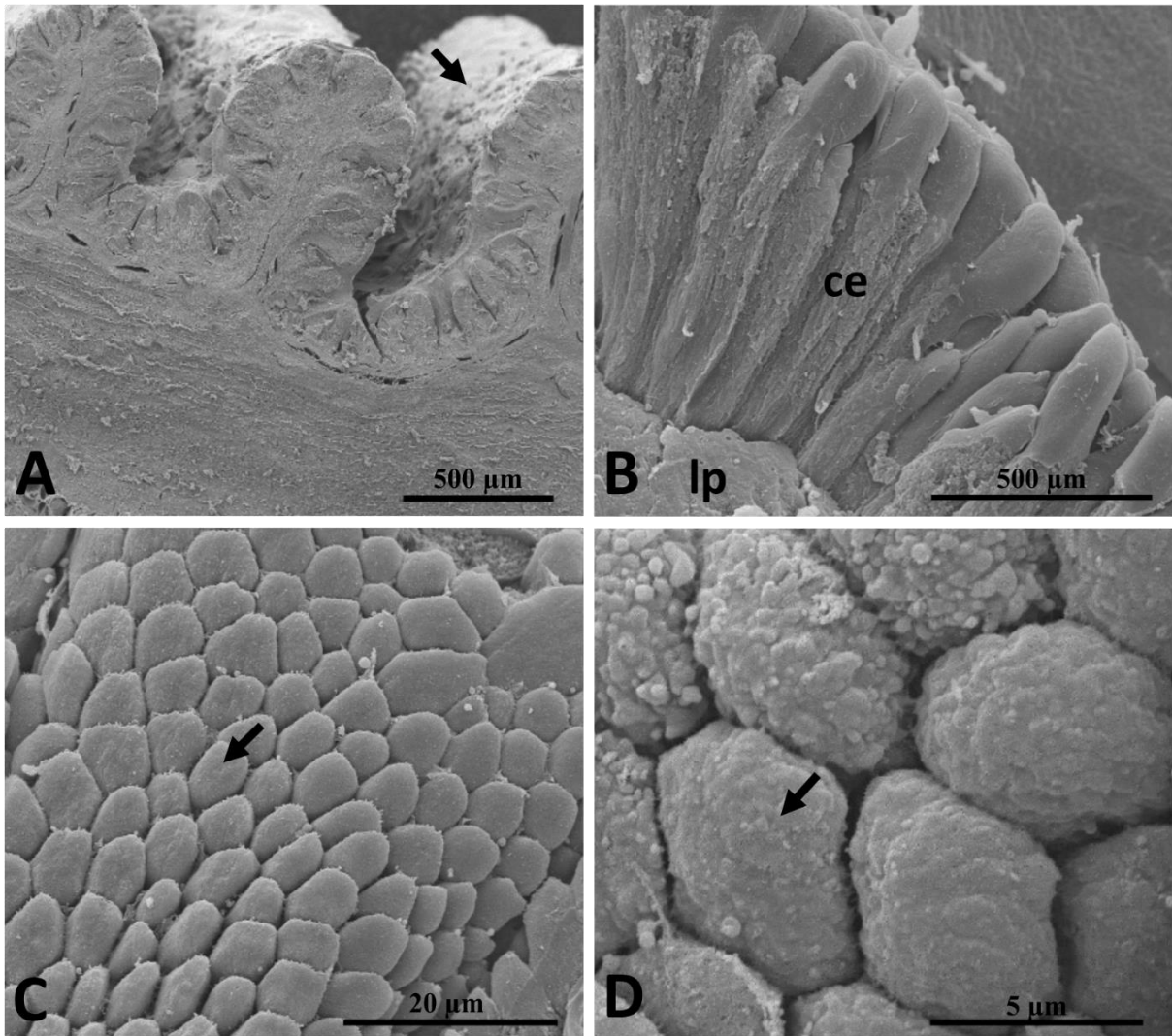
Na transição do estômago para o intestino, observou-se uma mudança na espessura da parede dos órgãos. A camada muscular circular da região pilórica gástrica apresentou-se bastante espessa, enquanto a camada muscular longitudinal diminuiu progressivamente em espessura até desaparecer na região de transição com o intestino. Mudanças nas características do epitélio também foram observadas, sendo o epitélio gástrico composto por células epiteliais, enquanto o epitélio intestinal apresentou células caliciformes e enterócitos.



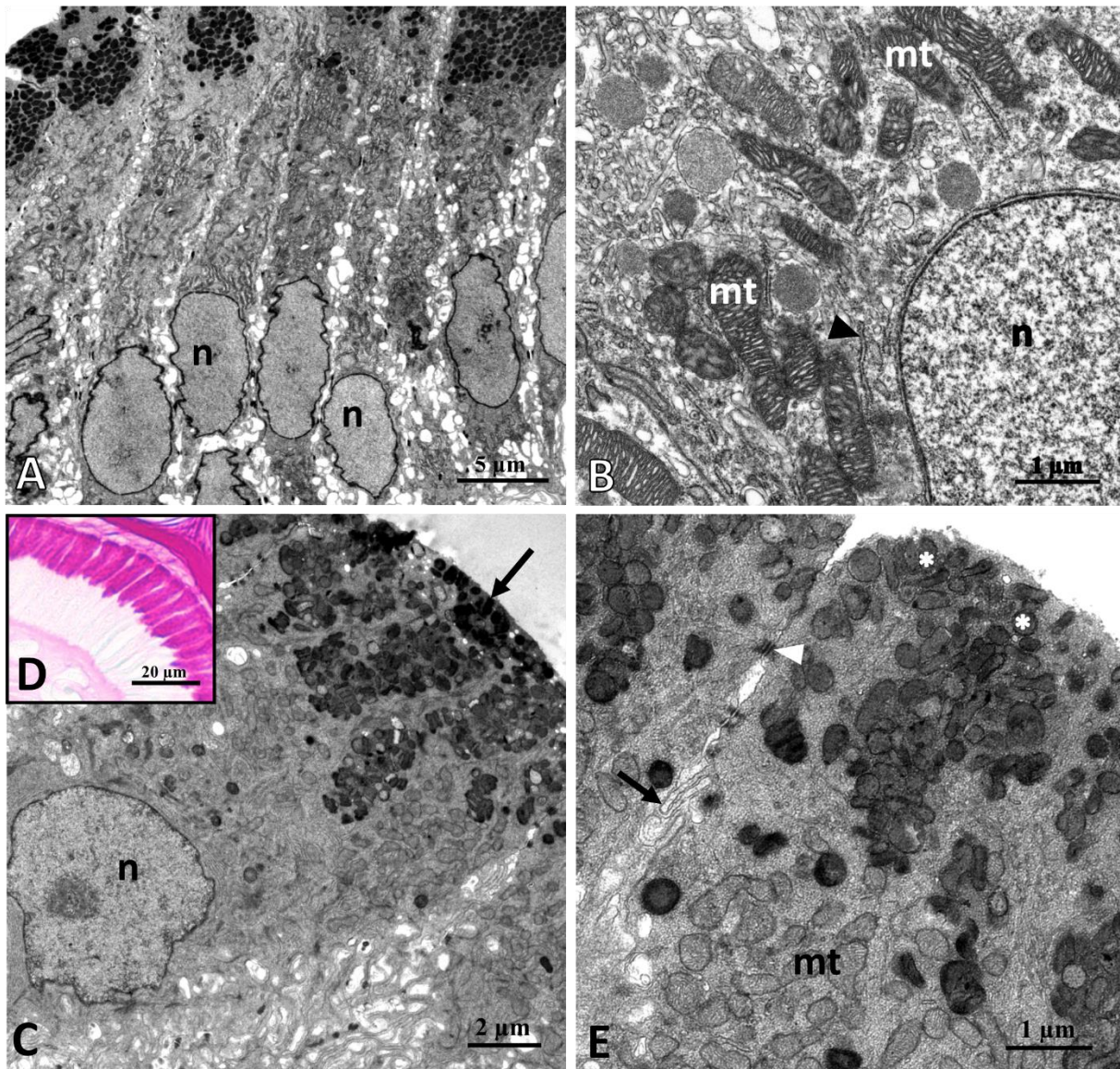
**Figura 13.** Estereomicrografias com destaque para o estômago cecal em forma de Y em *Leporinus macrocephalus*. **A.** Vista geral da estrutura interna esôfago (es), estômago dividido em regiões cárdica (ca), fúndica (fu) e pilórica (pi), esfíncter pilórico (asteriscos). São observados também o intestino anterior (ia) e cecos pilóricos (cp). **B.** Detalhe das pregas da região cárdica do estômago. **C.** Detalhe das pregas na região fúndica do estômago. **D.** Detalhe das pregas na região pilórica (pi), esfíncter (asteriscos) e o primeiro ceco pilórico (cp) no intestino anterior. Legenda: as setas em B, C e D indicam o sentido da passagem do quimo.



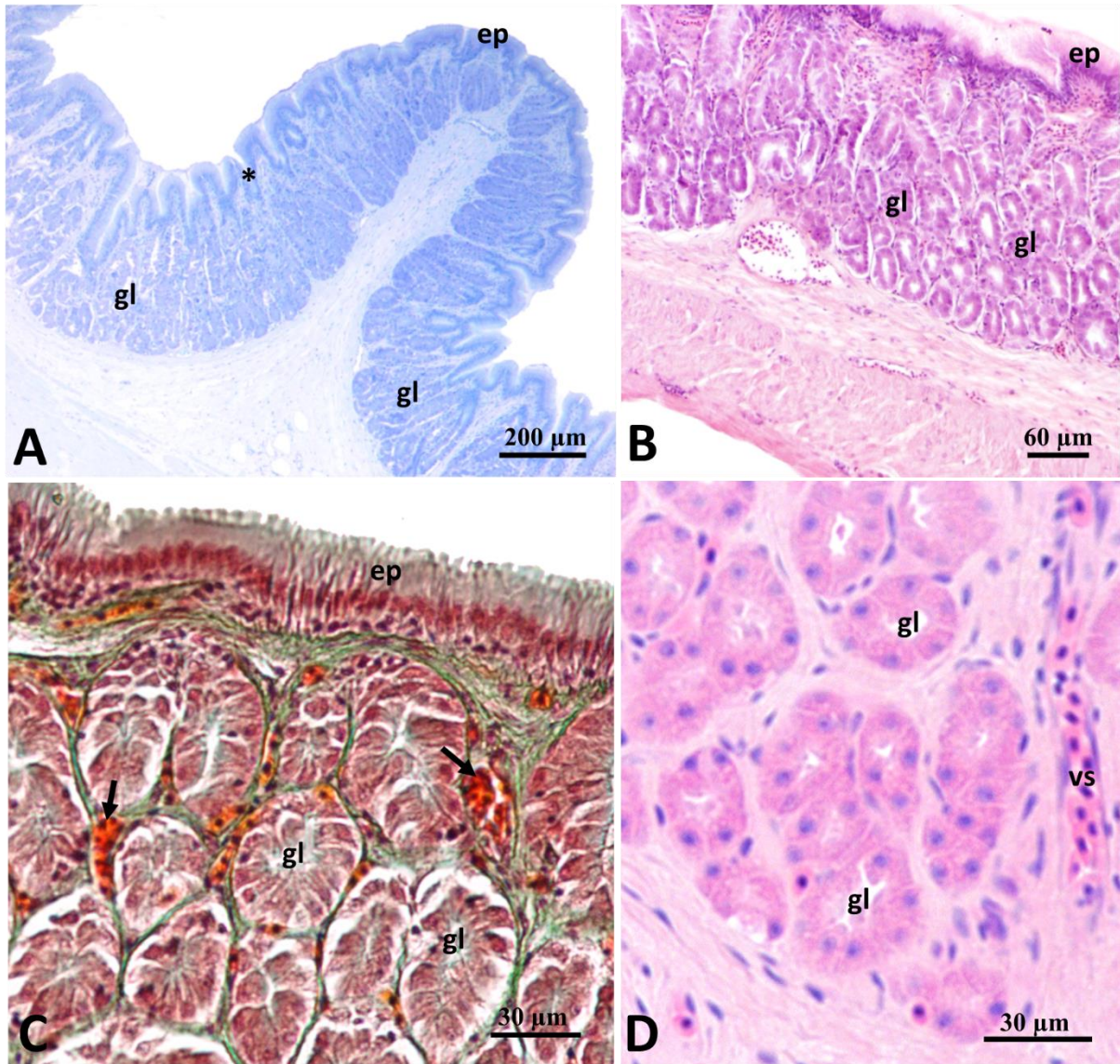
**Figura 14.** Fotomicrografias com destaque para o epitélio de revestimento gástrico. **A.** Epitélio simples colunar da região cárdica em *Leporinus elongatus* (TM). **B.** Epitélio simples colunar da região fúndica em *L. obtusidens*. Notar a diminuição da altura das células epiteliais na cripta gástrica (seta) (AT). **C** e **D.** Epitélio simples colunar da região pilórica em *L. macrocephalus* (AT). Legendas: lp- lâmina própria; ep- epitélio.



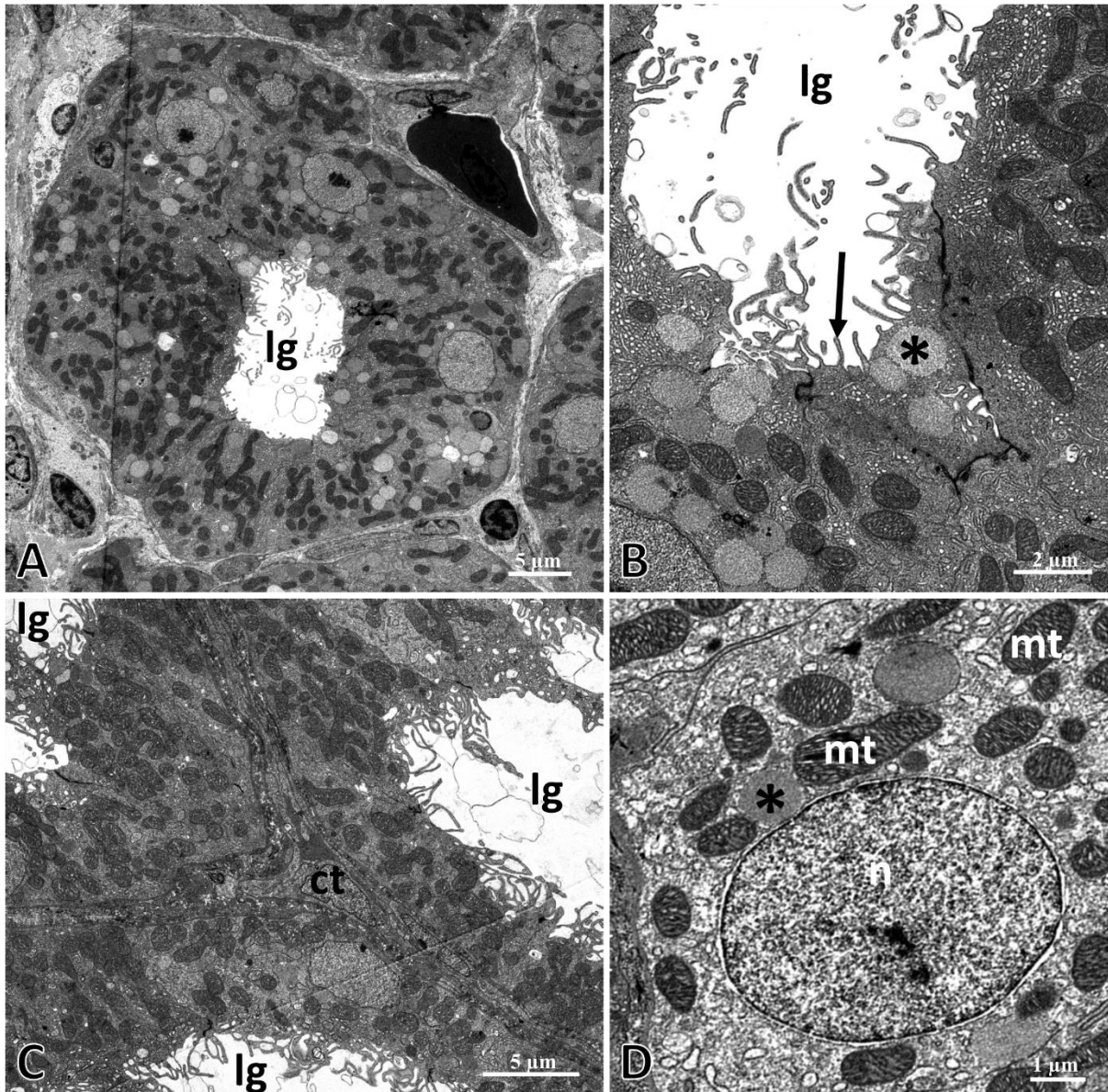
**Figura 15.** Eletromicrografias de varredura do estômago. **A.** Corte longitudinal da região cárdica do estômago de *Leporinus obtusidens* com destaque para as pregas (seta). **B.** Corte longitudinal da região pilórica do estômago de *L. elongatus* com destaque para o formato colunar das células epiteliais (ce) e lâmina própria (lp). **C e D.** Superfície gástrica em *L. macrocephalus* evidenciando o formato poliédrico das células epiteliais (setas).



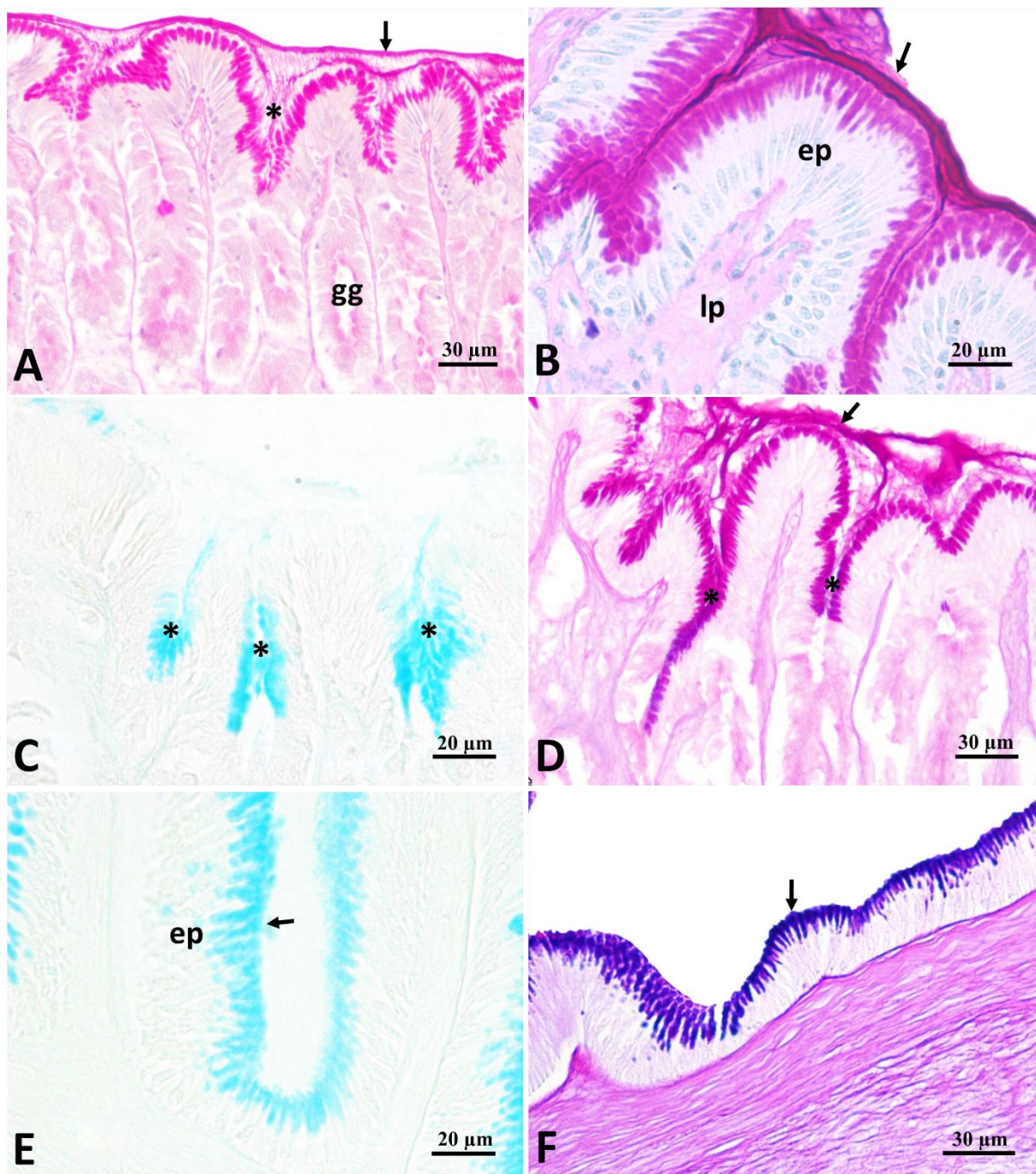
**Figura 16.** Epitélio de revestimento da região cárdica do estômago de *Leporinus elongatus*. **A.** Eletromicrografia de transmissão das células epiteliais com núcleos basais (n) e grânulos de secreção apicais. **B.** Eletromicrografia de transmissão com destaque para a região basal da célula epitelial, evidenciando núcleo (n), mitocôndrias (mt) e retículo endoplasmático rugoso (cabeça de seta). **C.** Eletromicrografia de transmissão da região apical de célula epitelial, com destaque para a camada contínua formada pelos grânulos de secreção (seta). **D.** Fotomicrografia evidenciando reação forte ao PAS no citoplasma apical das células epiteliais. **E.** Eletromicrografia de transmissão da região apical das células epiteliais, evidenciando os grânulos de secreção eletrondensos (asteriscos), mitocôndrias (mt), interdigitações de membranas (seta) e desmossomo (cabeça de seta).



**Figura 17.** Fotomicrografias das regiões cárdica e fúndica com destaque para as glândulas gástricas na lâmina própria. **A.** Corte transversal da região cárdica evidenciando grande quantidade de glândulas gástricas tubulares (gl) na lâmina própria em *Leporinus macrocephalus* (AT). **B.** Corte longitudinal da região fúndica em *L. elongatus*, com destaque para lâmina própria repleta de glândulas gástricas (gl). **C.** Glândulas gástricas (gl) na região fúndica em *L. macrocephalus*. Destaque para os feixes de tecido conjuntivo (verde) entre as glândulas gástricas e muitos vasos sanguíneos (setas) (TM). **D.** Glândulas gástricas (gl) na região cárdica em *L. macrocephalus*, mostrando citoplasma eosinófilo, feixes de tecido conjuntivo e vaso sanguíneo (vs). Legenda: ep- epitélio; asterisco- cripta gástrica.

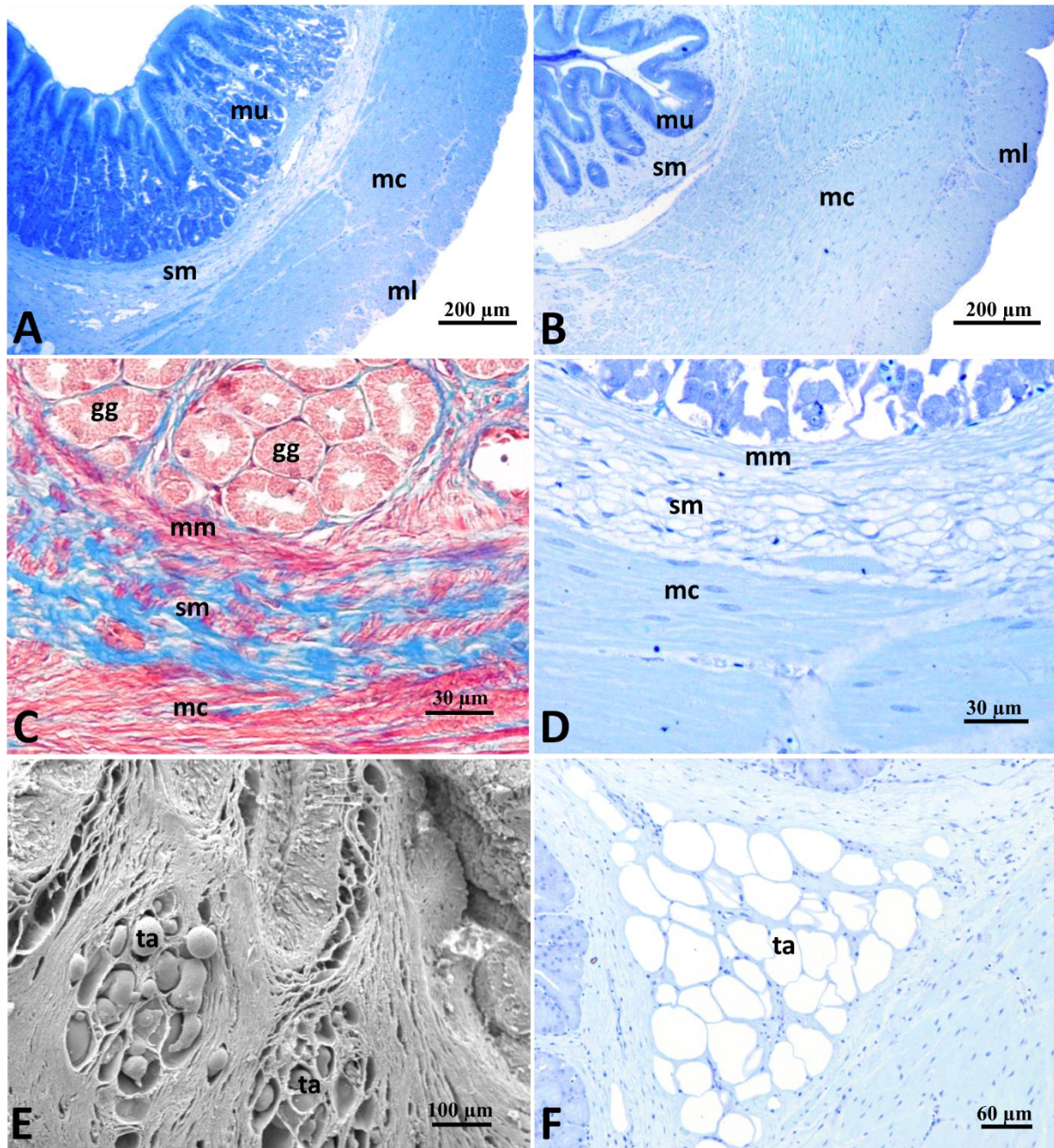


**Figura 18.** Eletromicrografias de transmissão das glândulas gástricas. **A.** Glândula gástrica da região cárdica do estômago composta por células oxintopépticas em *Leporinus macrocephalus*. **B.** Célula oxintopéptica com microvilosidades (seta), sistema vesiculotubular e grânulos elétron lúcidos (asterisco). **C.** Região de divisão entre três glândulas gástricas constituída por tecido conjuntivo (ct). **D.** Região basal da célula oxintopéptica, evidenciando núcleo arredondado, mitocôndrias (mt) e grânulos elétron lúcidos. Legenda: lg- luz da glândula gástrica.



**Figura 19.** Reações histoquímicas para detecção de mucossustâncias no estômago. **A e B.** Região cárdica do estômago de *Leporinus macrocephalus* apresentando forte reação ao PAS na região apical das células epiteliais. Notar a camada de mucossustâncias neutras sobre o epitélio (setas). Nas glândulas gástricas (gg) é possível observar uma reação fraca ao PAS (A: PAS e B: PAS + H). **C.** Reação forte ao AB (pH 2,5) nas criptas gástricas (asteriscos) em *L. obtusidens*. **D.** Associação de mucossustâncias neutras e ácidas nas criptas gástricas (asteriscos) em *L. elongatus* e camada de mucossustâncias neutra sobre o epitélio (seta) (AB pH 2,5 + PAS). **E.** Região pilórica do estômago de *L. elongatus* mostrando forte reação ao AB (pH 2,5) (seta) na região apical das células epiteliais. **F.** Região pilórica do estômago de *L. obtusidens* mostrando associação entre mucossustâncias neutras e ácidas (seta).





**Figura 20.** Estômago de *Leporinus obtusidens* **A.** Fotomicrografia de corte transversal da região fúndica com destaque para a divisão em camadas: mucosa (mu), submucosa (sm), muscular circular interna (mc) e muscular longitudinal externa (ml) (AT). **B.** Fotomicrografia de corte transversal da região pilórica com destaque para as camadas mucosa (mu), submucosa (sm), muscular circular (mc) e muscular longitudinal (ml). Notar a camada muscular mais espessa na região pilórica em relação a região fúndica (AT). **C e D.** Fotomicrografias com destaque para a camada muscular da mucosa (mm), submucosa (sm) e muscular circular interna na região fúndica do estômago (C: TM e D: AT). **E e F.** Fotomicrografias evidenciando tecido adiposo (ta) observado na região cárdica do estômago (E: eletromicrografia e F: AT).

## 4.6 Intestino

Para fins descritivos, o intestino das três espécies foi dividido em anterior, médio, posterior e reto. Ainda, no intestino anterior observou-se a presença de cecos pilóricos ou apêndices intestinais. Esses apêndices apresentaram-se como evaginações digitiformes da parede intestinal (Figs. 21 A e B), sendo que em *L. elongatus* e *L. obtusidens* foram observados cerca de 12 cecos e em *L. macrocephalus* cerca de 14 cecos pilóricos. O comprimento do intestino foi de  $36\pm 0,21$ cm para *L. elongatus*,  $44\pm 0,13$ cm para *L. macrocephalus* e  $35\pm 0,21$  para *L. obtusidens*. O comprimento do intestino foi utilizado para proceder o cálculo do quociente intestinal. O quociente foi de  $1,12\pm 0,12$  para *L. elongatus*,  $1,27\pm 0,24$  para *L. macrocephalus* e  $1,24\pm 0,16$  para *L. obtusidens*.

O intestino anterior apresentou inicialmente pregas com diferentes orientações e espessuras. Posteriormente as pregas tornaram-se circulares e apresentaram três alturas distintas (Fig. 21 D). As pregas mais altas também foram mais espessas quando comparadas com as demais regiões intestinais e apresentaram pregas secundárias (Fig. 22 A). Os cecos pilóricos apresentaram pregas delgadas longitudinais em zigue-zague (Fig. 21 C). No intestino médio observou-se pregas altas dispostas circularmente e pregas menores entre as pregas altas, orientadas também circularmente (Fig. 21 E). O intestino posterior apresentou pregas circulares mais baixas e mais delgadas que as demais regiões (Fig. 21 F). Na transição do intestino posterior para o reto, observou-se pregas reticulares. Finalmente, foram observadas pregas longitudinais delgadas no reto (Fig. 21 G).

A camada mucosa do intestino foi constituída por epitélio de revestimento simples colunar, composto principalmente por enterócitos e células caliciformes (Figs. 22 B-D e 23 E). Os enterócitos ou células absorptivas apresentaram-se colunares, com núcleo alongado em posição basal, nucléolo evidente e predomínio de cromatina descondensada (Fig. 24 A). Mitocôndrias arredondadas ou alongadas e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido foram observados no citoplasma (Figs. 24 B e C). Na região média e apical dos enterócitos observou-se estruturas

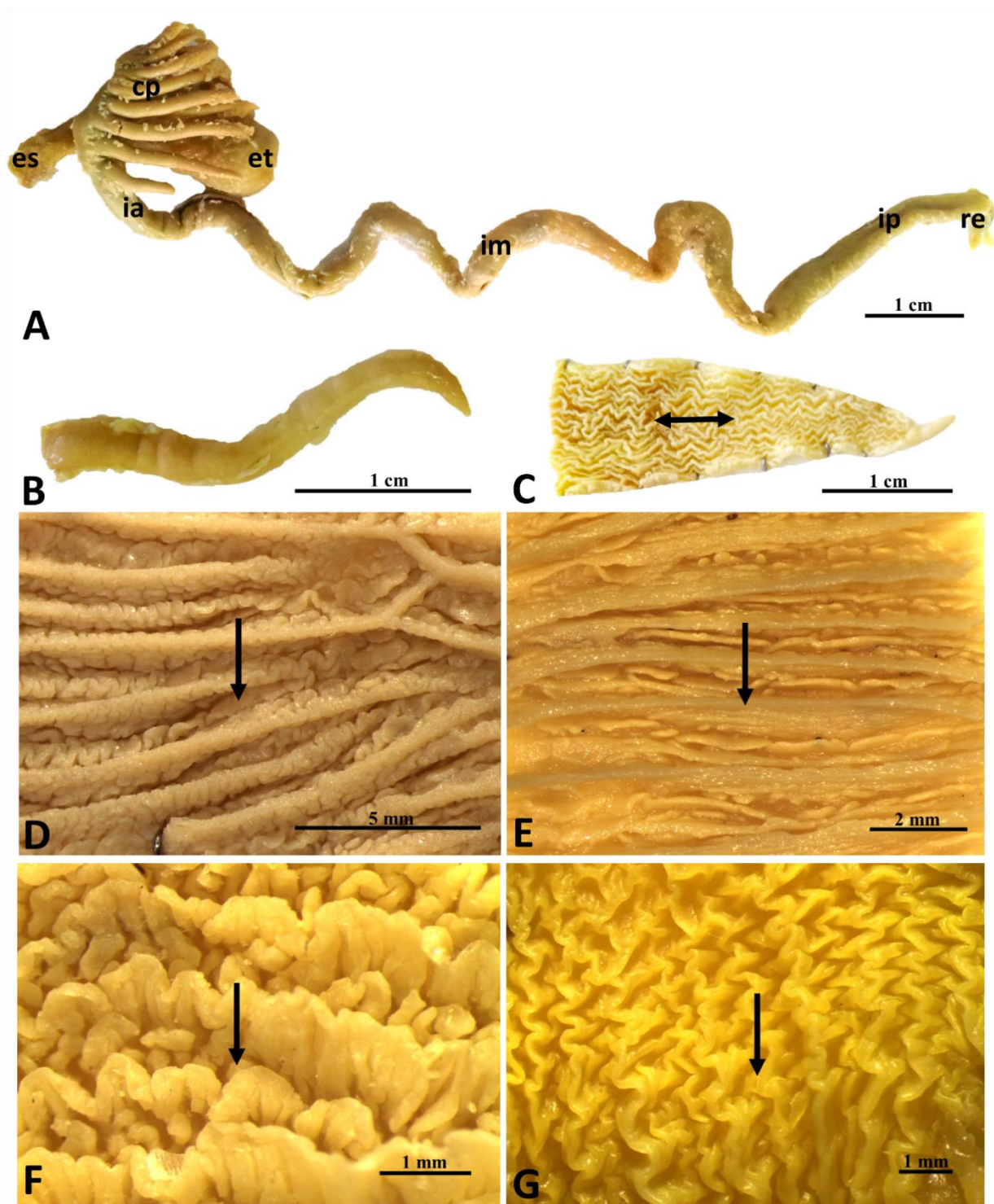
arredondadas fortemente eletrondensas (Fig. 24 B). Os enterócitos do intestino anterior apresentaram menor quantidade dessas estruturas eletrondensas no citoplasma, em relação à região posterior. Na superfície apical dos enterócitos foram observadas numerosas microvilosidades compondo a borda em escova (Figs. 24 e 25). As microvilosidades do intestino anterior e cecos pilóricos apresentaram-se mais longas em relação as demais regiões intestinais (Figs. 25 A-C). A análise histoquímica revelou reação ao PAS na borda em escova (Figs. 27 A, C e D). Nas reações citoquímicas para detecção de fosfatase alcalina, observou-se que esta enzima estava presente nas microvilosidades ao longo de todo o intestino, sendo observada marcação mais intensa no intestino anterior e cecos pilóricos (Figs. 25 D e E). Ainda, estabelecendo a unidade epitelial, foi possível visualizar o complexo juncional nas membranas plasmáticas adjacentes das células epiteliais, composto pela zônula de oclusão, zônula de adesão e desmossomos (Fig. 24 C).

As células caliciformes foram observadas entre os enterócitos, e apresentaram base delgada e ápice amplo (Figs. 22 D; 23 E e F; 24 D). Além disso, observou-se maior abundância de células caliciformes em direção ao intestino posterior (Fig. 27). O núcleo das células caliciformes encontrava-se em posição basal, com formato irregular e predomínio de eucromatina, mas também numerosos aglomerados eletrondensos de heterocromatina (Fig. 24 A). A maior parte do citoplasma das células caliciformes apresentou-se repleta de grânulos de secreção que apresentaram metacromasia ao Azul de Toluidina (Fig. 22 D). Os grânulos de secreção apresentaram formato arredondado, com eletrondensidade variada (Fig. 24 D). No citoplasma perinuclear observou-se mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido. Os estudos histoquímicos revelaram que as mucossubstâncias das células caliciformes apresentaram reações forte ao PAS e AB (pH 2,5) (Figs. 27 A-C). Para AB (pH 1,0) observou-se reação forte nos intestinos médio e posterior de *L. elongatus* e *L. obtusidens*, enquanto que para *L. macrocephalus* observou-se reação forte em todos os segmentos intestinais (Tab. 2). Nos preparados submetidos à reação de AB (pH 2,5) + PAS, foram observadas secreções de coloração azulada e violeta (Fig. 27 D).

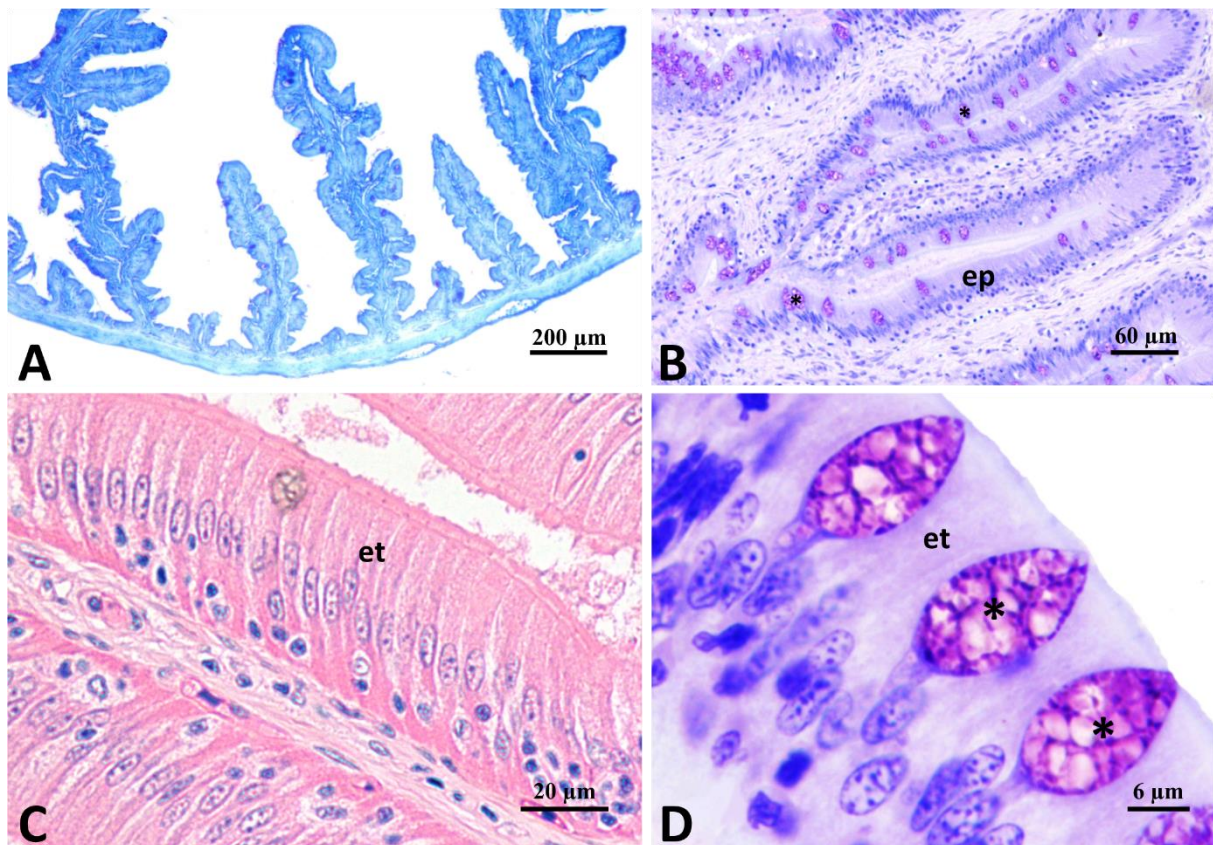
No intestino de *L. macrocephalus* e *L. elongatus* além dos enterócitos e células caliciformes, foram identificadas células “rodlet” ou células com bastonetes (Fig. 26). Em

relação aos enterócitos, as células “rodlet” apresentaram-se menores e foram localizadas em diferentes posições no epitélio. Essas células apresentaram formato de pera com núcleo arredondado e basal (Figs. 26 A, B e E). Sob microscopia eletrônica de transmissão, observou-se bastonetes com porção central eletrondensa, mitocôndrias alongadas e retículo endoplasmático rugoso no citoplasma. A membrana plasmática estava envolta por uma cápsula fibrosa (Figs. 26 C-F). Além disso, quando as células “rodlet” estavam posicionadas no ápice do epitélio observou-se junções de membrana na região apical das células e um aumento na espessura da cápsula fibrosa (Figs. 26 C e D).

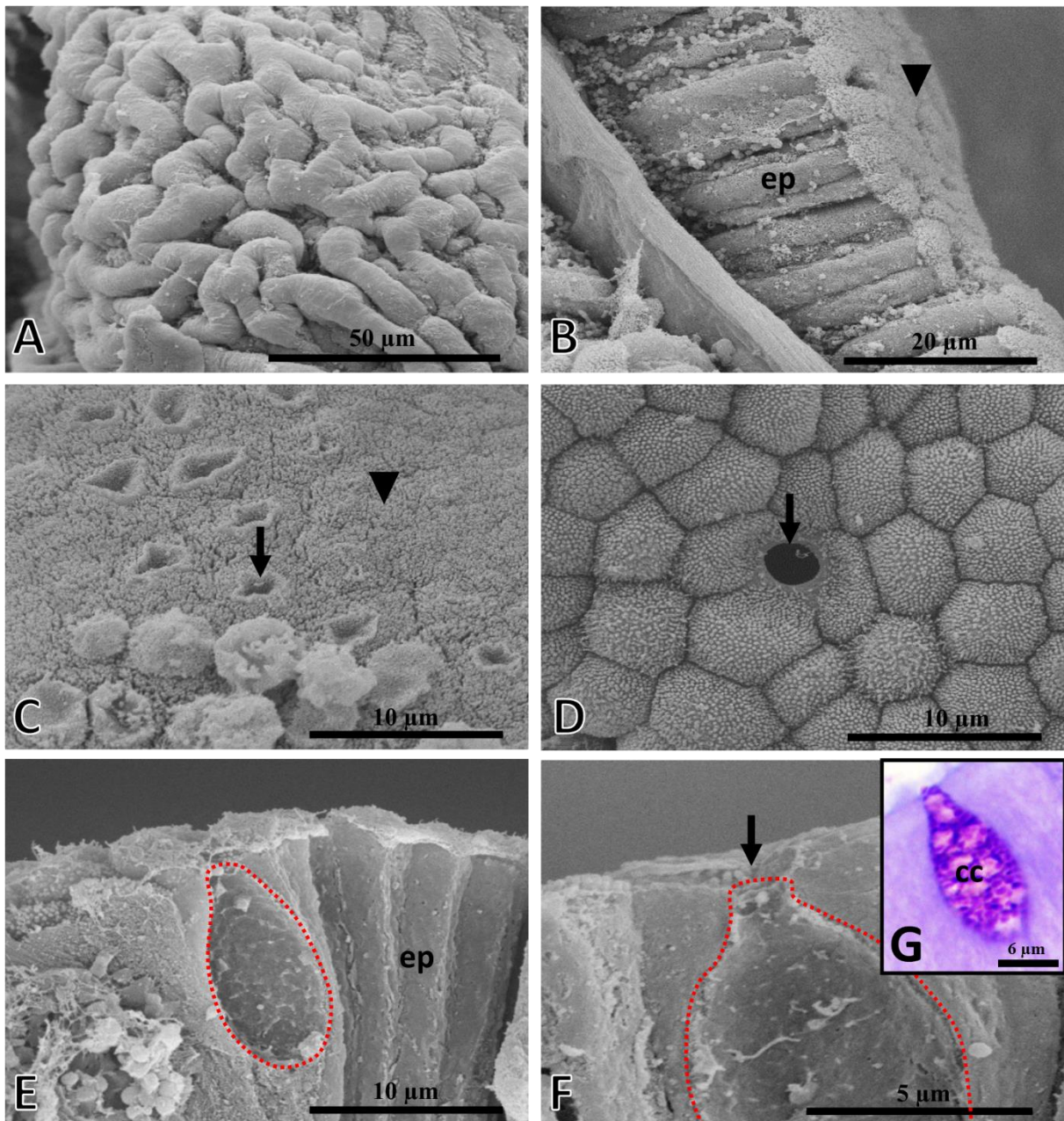
A camada submucosa do intestino das três espécies estudadas foi composta por tecido conjuntivo denso, caracterizado por baixa concentração de células e maior quantidade de fibras conjuntivas. Esta camada apresentou-se mais delgada na região anterior quando comparada às regiões subseqüentes do intestino. A camada muscular apresentou-se composta por fibras lisas com duas orientações distintas, sendo observada uma camada circular interna mais espessa e uma camada longitudinal externa mais delgada (Fig. 28). Esta camada também aumentou em espessura em direção ao intestino posterior, sendo bastante espessa no reto. Finalmente, a camada serosa apresentou-se composta uma camada de tecido conjuntivo e epitélio de revestimento simples pavimentoso.



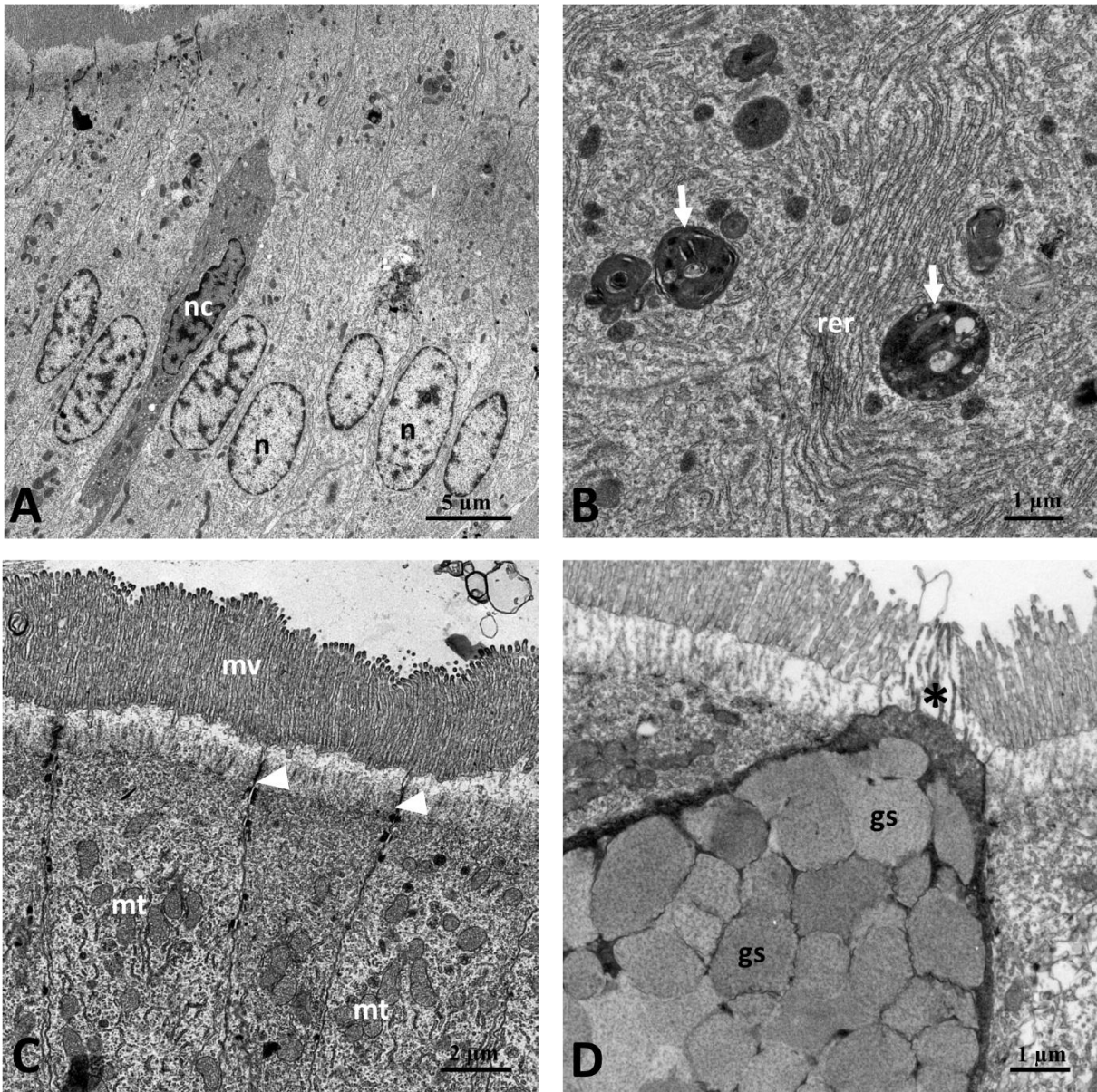
**Figura 21.** Estereomicrografias do tubo digestivo de *Leporinus obtusidens*. **A.** Tubo digestivo composto por esôfago (es), estômago (et), intestino anterior (ia), cecos pilóricos (cp), intestino médio (im), intestino posterior (ip) e reto (re). **B.** Ceco pilórico apresentando formato cilíndrico. **C.** Pregas longitudinais em zigue-zague nos cecos pilóricos. **D.** Pregas circulares do intestino anterior. **E.** Pregas circulares do intestino médio. **F.** Pregas circulares do intestino posterior. **G.** Pregas longitudinais do reto. Legendas: As setas em C, D, E, F e G indicam o sentido da passagem do alimento.



**Figura 22.** Fotomicrografias de cortes dos intestinos com destaque para as pregas e epitélio. **A.** Corte longitudinal do intestino anterior de *L. macrocephalus* com destaque para a organização das pregas intestinais. Notar pregas em diferentes alturas (AT). **B.** Corte transversal do intestino médio de *L. macrocephalus* com destaque para o epitélio intestinal (ep) (AT). **C.** Corte transversal do ceco pilórico de *L. elongatus* com destaque para os enterócitos (et) (HE). **D.** Corte transversal do intestino posterior de *L. obtusidens* com destaque para as células caliciformes (asteriscos) entre os enterócitos (et) (AT).

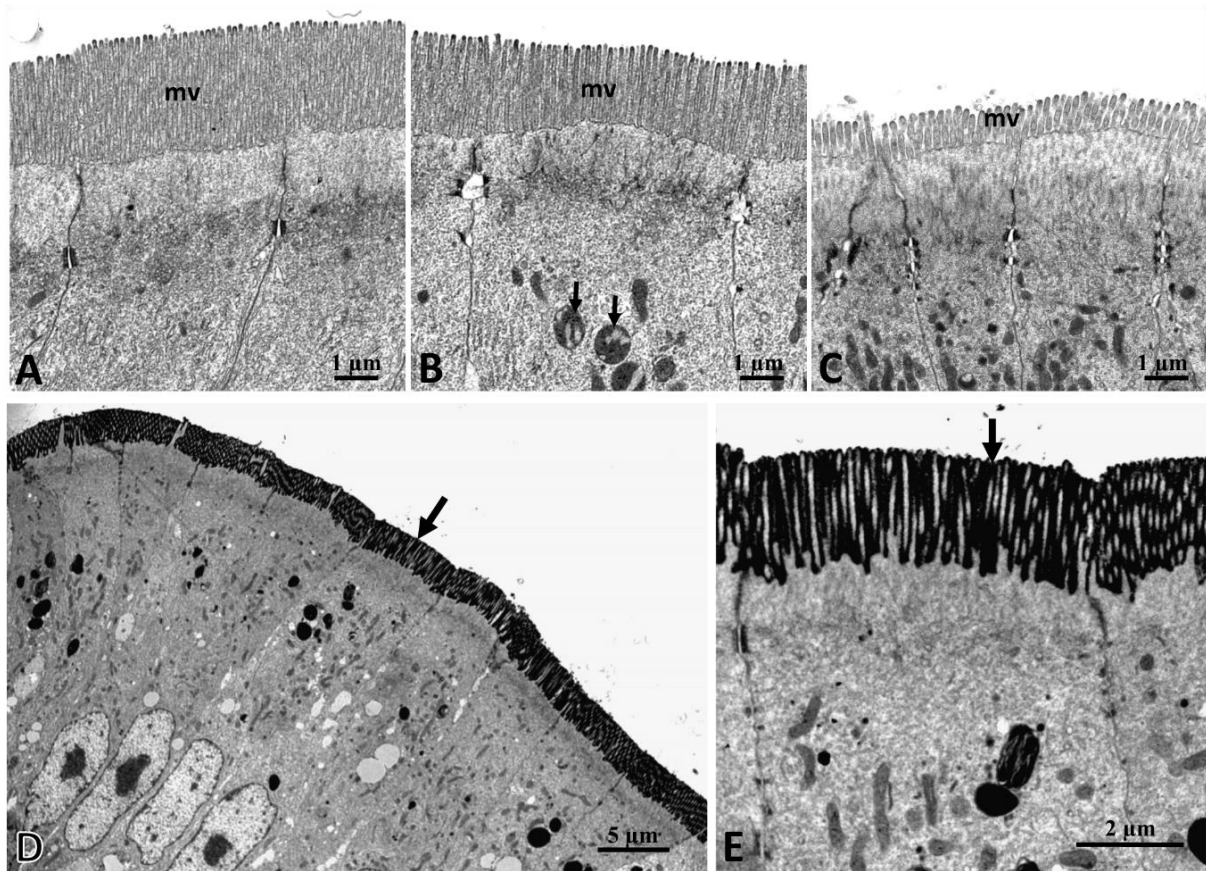


**Figura 23.** Eletromicrografias de varredura dos intestinos. **A.** Superfície de uma prega do intestino anterior de *Leporinus obtusidens*. **B.** Cecos pilóricos de *L. macrocephalus* com destaque para o epitélio simples colunar (ep) e microvilosidades dos enterócitos (cabeça de seta). **C.** Superfície do intestino médio de *L. elongatus* com destaque para microvilosidades (cabeça de seta) e abertura de células caliciformes (seta). **D.** Intestino posterior de *L. obtusidens* com destaque para abertura de células caliciforme (seta) entre os enterócitos. **E e F.** Cortes longitudinais do intestino posterior de *L. obtusidens*, com destaque para abertura (seta) das células caliciformes (pontilhado) entre os enterócitos. **G.** Fotomicrografia mostrando a região média e apical da célula caliciforme (cc) repleta de grânulos de secreção com metacromasia ao Azul de Toluidina. Legenda: ep- epitélio.

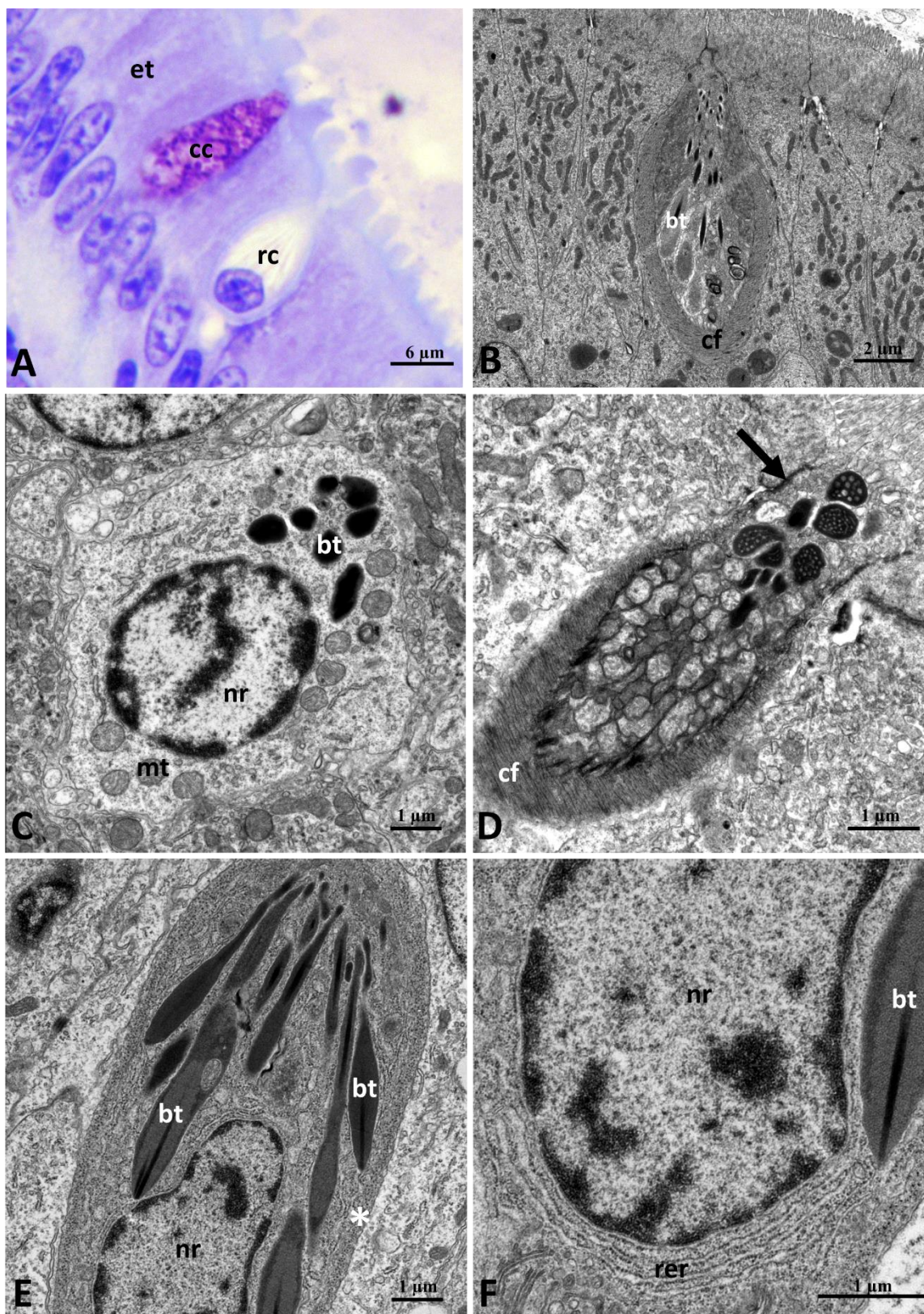


**Figura 24.** Eletromicrografias de transmissão do epitélio intestinal. **A.** Corte longitudinal do epitélio simples colunar composto por células caliciformes e enterócitos. Notar núcleo irregular da célula caliciforme (nc) e núcleos alongados dos enterócitos (n). **B.** Corte transversal do epitélio do intestino médio. Destaque para os grânulos eletrondensos (setas) e grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso (rer). **C.** Região apical dos enterócitos do intestino anterior, com destaque para as microvilosidades (mv), junções de membrana (cabeça de seta) e mitocôndrias (mt). **D.** Região apical de uma célula caliciforme entre enterócitos com destaque para abertura da célula caliciforme (asterisco) e os grânulos de secreção (gs).

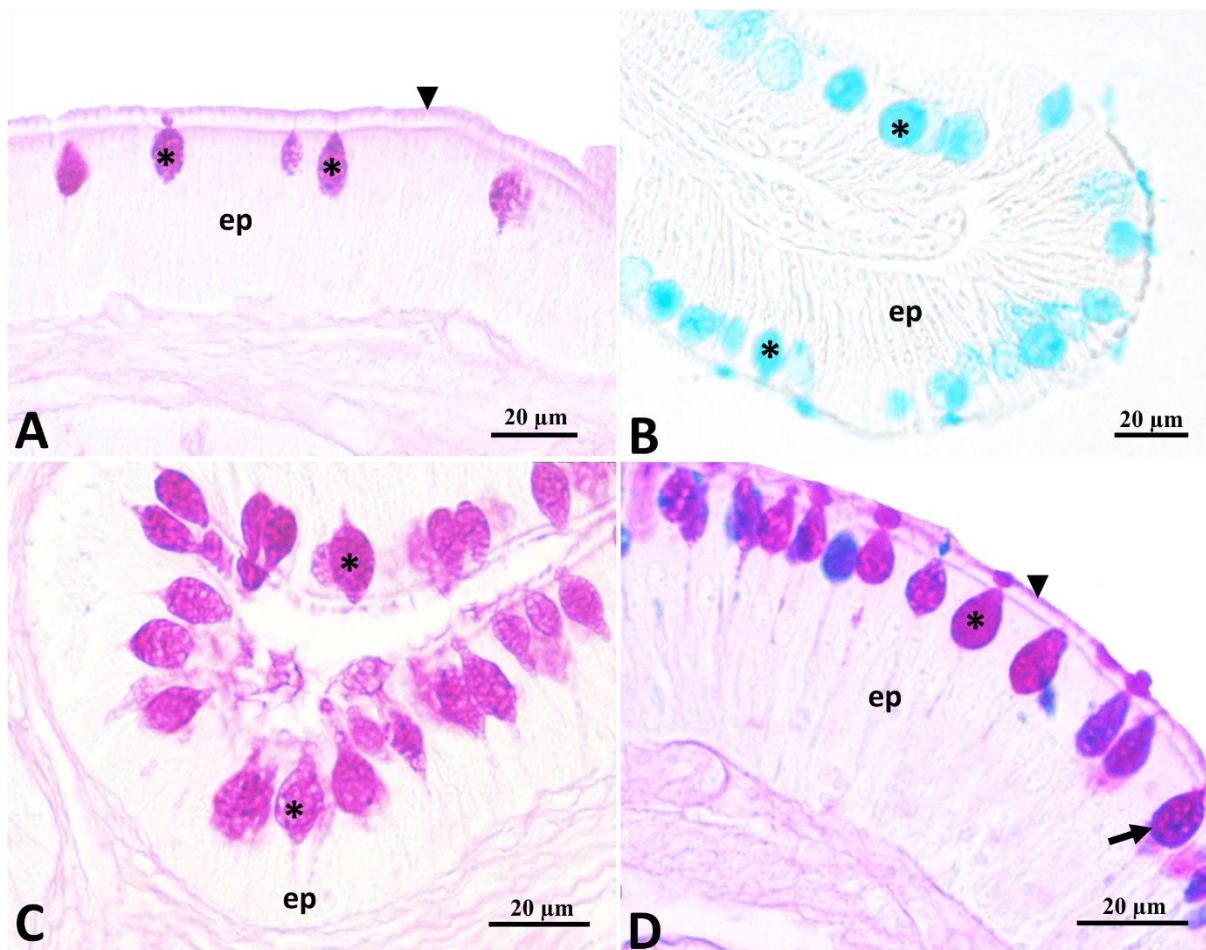




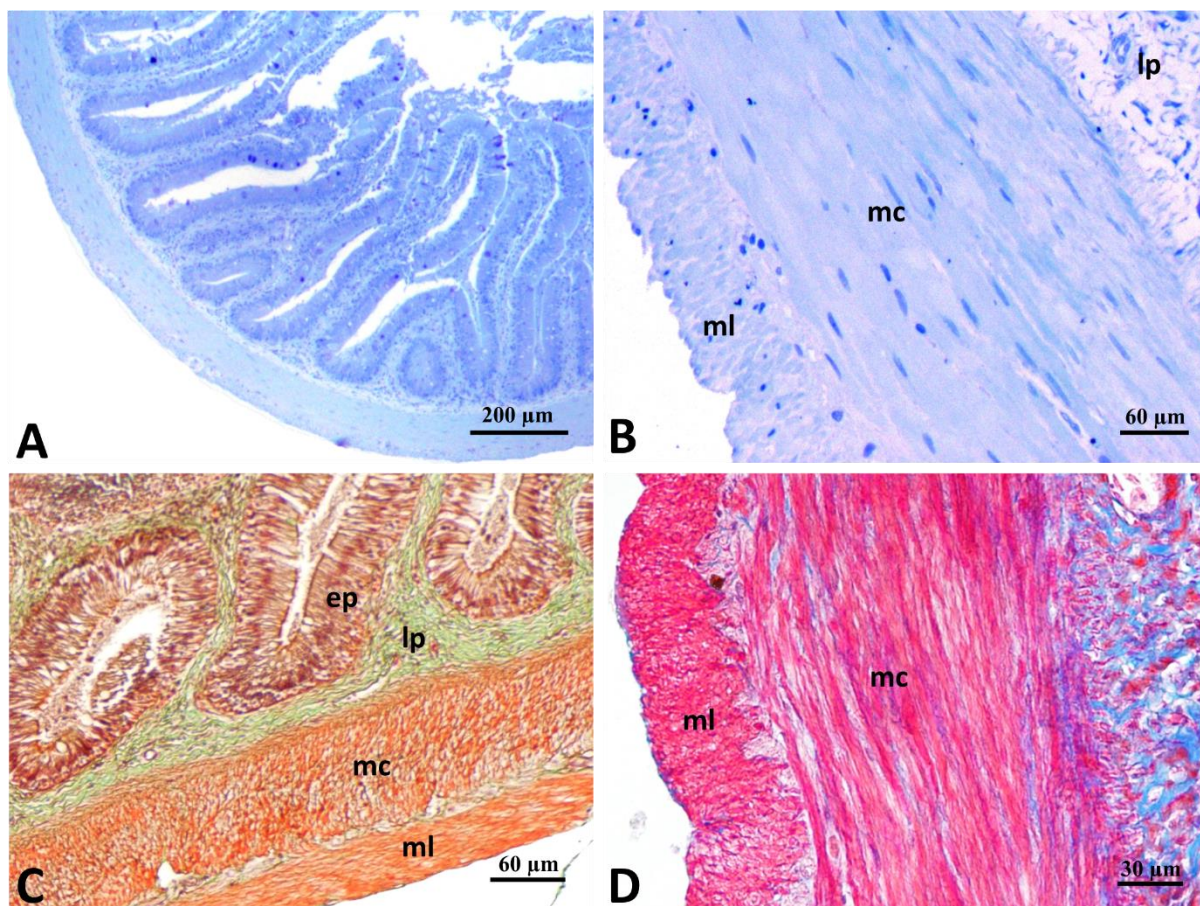
**Figura 25.** Eletromicrografias dos intestinos de *Leporinus macrocephalus* com destaque para as microvilosidades (mv) dos enterócitos. **A.** Intestino anterior, apresentando as microvilosidades mais altas. **B.** Intestino médio, com microvilosidades de altura intermediária. **C.** Intestino posterior, com as microvilosidades mais baixas em comparação às demais regiões intestinais. **D e E.** Marcação para a enzima fosfatase alcalina nas microvilosidades do intestino anterior (setas).



**Figura 26.** Células “rodlet” (seta) no intestino anterior e cecos pilóricos de *Leporinus elongatus* e *L. macrocephalus*. **A.** Micrografia do intestino anterior de *L. elongatus*. Destaque para o epitélio de revestimento com célula caliciforme (cc), enterócito (et) e célula “rodlet” (cr) (AT). **B.** Eletromicrografia do intestino anterior de *L. macrocephalus* evidenciando a células “rodlet” localizadas na porção apical do epitélio entre os enterócitos (et). Notar a espessa capsula fibrosa (cf) envolvendo a membrana plasmática da célula “rodlet”, junções de membranas e bastonetes (bt). **C.** Célula “rodlet” em corte transversal com destaque para o núcleo (nr), mitocôndrias (mt) e bastonetes (bt). **D.** Célula “rodlet” na porção apical dos cecos pilóricos de *L. elongatus* com destaque para a capsula fibrosa espessa e junções de membrana (seta). **E** e **F.** Célula “rodlet” na base do epitélio dos cecos pilóricos em *L. elongatus*. Destaque para o núcleo basal (nr), bastonetes (bt), retículo endoplasmático rugoso (rer), e capsula fibrosa (asterisco) delgada.



**Figura 27.** Reações histoquímicas nos intestinos. **A.** Intestino anterior de *Leporinus macrocephalus* apresentando reação ao PAS nas células caliciformes (asteriscos) e na borda em escova dos enterócitos (cabeça de seta). **B.** Intestino posterior de *L. obtusidens* apresentando reação positiva ao AB (pH 2,5) nas células caliciformes (asteriscos). **C.** Intestino posterior de *L. obtusidens*, apresentando reação ao PAS nas células caliciformes (asteriscos) e borda em escova dos enterócitos. **D.** Reto de *L. elongatus* apresentando células caliciformes com cor azulada (seta) e violeta (asterisco), indicando interação entre mucossustâncias ácidas e neutras (AB pH 2,5 + PAS) e reação violeta na borda em escova dos enterócitos (cabeça de seta). Legenda: ep- epitélio.



**Figura 28.** Fotomicrografias dos intestinos de *Leporinus elongatus* evidenciando a divisão em camadas. **A.** Corte transversal do intestino anterior (AT). **B.** Corte transversal do intestino anterior com destaque para as camadas muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (AT). **C.** Corte transversal do intestino médio mostrando epitélio (ep), lâmina própria/submucosa (lp), camada muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (TM). **D.** Corte transversal do intestino posterior com destaque para a camada muscular circular interna (mc) e longitudinal externa (ml) (TM).

## *5. DISCUSSÃO*

No presente estudo foram descritas as características anatômicas, histológicas, histoquímicas, ultraestruturais e citoquímica (enzima fosfatase alcalina) do tubo digestivo de *Leporinus elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens*. As três espécies são classificadas como onívoras de amplo espectro (SATO et al., 2003), porém apresentam diferenças morfológicas marcantes, como a posição da boca, presença de botões gustativos no esôfago, presença de células “rodlet” no intestino, quantidade de cecos pilóricos e reações histoquímicas distintas. Essas características podem estar relacionadas com a preferência alimentar de cada espécie, o que possibilita o aproveitamento de alimentos disponíveis em diferentes épocas do ano, bem como a coexistência num mesmo ambiente (ALBRECHT et al., 2001).

A espécie *L. macrocephalus* apresenta boca terminal, enquanto *L. obtusidens* e *L. elongatus* possuem boca subterminal na fase adulta. Para peixes a boca em posição terminal, facilita a captura de insetos, sementes e folhas na superfície da água (ANGELESCU e GNERI, 1949), enquanto que a boca em posição subterminal está correlacionada com a alimentação bentônica (WINEMILLER et al., 1995). De acordo com Baldissetto e Gomes (2010), as espécies *L. obtusidens* e *L. elongatus* alimentam-se majoritariamente de itens depositados no fundo, enquanto que *L. macrocephalus* tem preferência por sementes, insetos e pequenos peixes capturados na coluna. Segundo Kubitzka (1999), espécies que apresentam a boca em posição terminal tem maior facilidade na captura da ração flutuante. Nesse sentido, *L. macrocephalus* pode ser considerada uma espécie com maior facilidade de treinamento para consumo de ração extrusada em tanques de piscicultura, principalmente em sistemas intensivos como tanques-rede, que impossibilitam o contato do animal com o fundo do tanque ou reservatório.

As três espécies estudadas são dotadas de dentes com alto poder de corte, que permitem a apreensão de pequenos peixes e insetos, corte de vegetais e galhos ou quebra de frutos com casca dura. Em seguida o alimento passa pelas placas de dentes faríngeos. Os dentes faríngeos são encontrados em todos os anostomídeos e sua função relaciona-se com a escarificação e/ou trituração do alimento (WINEMILLER et al., 1995). Segundo Vari (1983), a dentição faríngea

observada em espécies das famílias Chilodontidae e Anostomidae é muito desenvolvida, possibilitando uma maior eficiência no aproveitamento de itens com menor digestibilidade, que são triturados em partículas ainda menores antes de chegarem ao estômago.

O tubo digestivo das espécies estudadas foi dividido em: esôfago (regiões anterior e posterior), estômago (regiões cárdica, fúndica e pilórica), intestino anterior com cecos pilóricos, intestino médio, intestino posterior e reto. Para peixes não há um consenso sobre a divisão dos segmentos do tubo digestivo (MORAES e ALMEIDA, 2014). Porém, a divisão adotada neste estudo está de acordo com a literatura recente para peixes e parece ser a mais adequada para estudos em nível celular e histoquímico (LØKKA et al., 2013; FACCIOLI et al., 2014; MORAES e ALMEIDA, 2014; FACCIOLI et al., 2015).

Os *Leporinus* estudados apresentaram esôfago curto e muscular. Macroscopicamente as pregas apresentaram-se longitudinais delgadas para as três espécies. Essas pregas são importantes para a ampliação da luz do órgão facilitando a passagem do alimento (PARK e KIM, 2001; RODRIGUES et al., 2008). O esôfago é um órgão bastante elástico em peixes predadores e menos distensível nas espécies detritívoras e herbívoras (BALDISSEROTTO, 2009; RUST, 2002). Espécies onívoras podem ingerir itens grandes de origem vegetal ou animal, como frutos e peixes. Porém, para anostomídeos é mais comum a ingestão de itens previamente triturados na bucofaringe (ALBRECHT et al., 2001), o que pode explicar as pregas delgadas observadas no esôfago.

A mucosa esofágica nas espécies estudadas apresentou-se revestida por epitélio estratificado pavimentoso. Esta característica é importante para a renovação e manutenção da camada epitelial (XIONG et al., 2011; FACCIOLI et al., 2014). Outra característica fundamental para manutenção do epitélio esofágico é a presença de numerosas junções de membrana. De acordo com Wilson e Castro (2010), essas junções conferem resistência mecânica ao epitélio esofágico de peixes. Assim, o grande número de junções de membrana

observados no esôfago das espécies estudadas conferem ao epitélio forte tensão e coesão prevenindo lesões provocadas pela ingestão dos alimentos.

O epitélio esofágico apresentou dois tipos celulares principais: células epiteliais e células caliciformes. As células epiteliais esofágicas apresentaram núcleo central que acompanhou o formato celular, citoplasma pobre em organelas apresentando mitocôndrias arredondadas e retículo endoplasmático rugoso pouco desenvolvido. Estas características podem ser associadas à baixa síntese proteica destas células. Porém, Carrassón et al. (2006) observaram a existência de grânulos elétron-lúcidos associados ao complexo de Golgi nas células epiteliais do esôfago de *Dentex dentex*, sugerindo que estes grânulos podem combinar-se com mucossubstâncias secretadas pelas células caliciformes, para fornecer uma função digestiva ao esôfago. Nas células epiteliais apicais do esôfago das espécies estudadas observou-se a presença de microssaliências digitiformes na membrana plasmática apical. As microssaliências foram também descritas por diversos autores (SPERRY e WASSERSUG, 1976; SOARES et al., 1995; ARELLANO et al., 2001; EL HAFEZ et al., 2013; FACCIOLI et al., 2015). Estas estruturas estão associadas com a proteção da superfície epitelial contra traumas mecânicos e com a ancoragem das mucossubstâncias secretadas pelas células caliciformes, formando uma superfície lubrificada para passagem do alimento (SPERRY e WASSERSUG, 1976; HUMBERT et al., 1984; GRAU et al., 1992; ABAURREA-EQUISOAÍN e OSTOS-GARRIDO, 1996). A presença de uma superfície esofágica altamente lubrificada pode facilitar ingestão de alimentos secos, como rações. Em sistemas de produção, é essencial que as rações sejam consumidas pelos animais logo após o oferecimento, evitando assim a lixiviação dos nutrientes na água e o aumento da matéria orgânica depositada no fundo dos tanques (KUBITZA, 1999).

As células caliciformes esofágicas foram observadas em grande quantidade ao longo do epitélio esofágico. De acordo com Scooco et al. (1998), glândulas salivares não são encontradas em peixes teleósteos e assim as células secretoras esofágicas podem apresentar uma função



semelhante a essas glândulas. Embora o termo “caliciforme” remeta ao formato de cálice, no epitélio do esôfago das espécies estudadas estas células apresentam formato alongado com muitos grânulos de secreção distribuídos pelo citoplasma. A forma alongada está relacionada com uma melhor fixação célula-célula, importante para manutenção da unidade epitelial (GÓES e TABOGA, 2005). As células caliciformes apresentaram núcleo basal com predomínio de cromatina descondensada e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido, típico de células secretoras com alta atividade sintética, assim como observado por Faccioli et al. (2014) em *Hemisorubim platyrhynchos*.

As análises histoquímicas revelaram que a secreção das células caliciformes esofágicas apresentou mucossustâncias neutras (PAS positivas), ácidas carboxiladas (AB pH 2,5 positivas), ácidas sulfatadas (AB pH 1,0 positivas), bem como associação entre mucossustâncias ácidas e neutras. Quanto a intensidade das reações, observou-se no presente estudo variação entre as espécies e entre as regiões do esôfago estudadas. As variações entre espécies estão relacionadas com o tipo de alimento ingerido e com os desafios sanitários enfrentados pelos peixes (CAO e WANG, 2009). Por outro lado, as variações entre as regiões esofágicas, estão relacionadas com a atividade principal de cada região (HUMBERT et al., 1984; FERRARIS et al., 1987). Em estudos com *Sparus aurata*, *Solea senegalensis* e *Acipenser baeri*, Sarasquete et al. (2001), observaram que as células caliciformes da região distal do esôfago, próximas ao estômago, secretam grande quantidade de mucossustâncias neutras e as células da região proximal produzem menor quantidade de muco neutro e grande quantidade de mucossustâncias ácidas. De maneira geral este mesmo padrão foi observado para as três espécies estudadas. De acordo com Ferraris et al. (1987), a predominância de mucossustâncias neutras na região posterior do esôfago está associada à proteção contra os sucos gástricos do estômago. Por outro lado, as mucossustâncias ácidas carboxiladas e sulfatadas, que são responsáveis por aumentar a viscosidade das secreções e proteger o epitélio contra agentes

infecciosos são importantes na região anterior do esôfago para a proteção dos órgãos do tubo digestivo (HUMBERT et al., 1984; TIBBETTS, 1997; DÍAZ et al., 2008).

Em *L. macrocephalus*, a região anterior do esôfago apresentou botões gustativos. Esses botões são importantes estruturas sensoriais, responsáveis pelo sentido de gustação, empregado na seleção de alimentos e são geralmente numerosos na cavidade bucofaringea e na porção cranial do esôfago (HALE, 1965; WASSERSUG e JOHNSON, 1976; EL HAFEZ et al., 2013). Porém, no esôfago de *L. elongatus* e *L. obtusidens* não foram encontrados botões gustativos, assim como observado por Albrecht et al. (2001) em *L. friderici* e *L. taeniofasciatus*, indicando ausência de paladar na região esofágica. Segundo os mesmos autores a ausência de botões gustativos no esôfago pode indicar que o alimento é selecionado antes de ser ingerido. Este fato pode relacionar-se com o método de apreensão dos alimentos utilizados pelas espécies estudadas. Estudos comportamentais demonstraram que *L. macrocephalus* prefere capturar o alimento na coluna da água ou na superfície e muitas vezes este alimento é rejeitado pelo peixe (RIBEIRO et al., 2001), enquanto *L. elongatus* e *L. obtusidens* costumam vasculhar o fundo dos rios selecionando o alimento antes da deglutição (BARBIERI et al., 1994). Para piscicultura, peixes que selecionam o alimento antes da deglutição são interessantes, visto que é possível verificar a aceitação da ração com maior precisão.

No presente estudo, não foi observada camada muscular da mucosa no esôfago e assim sendo não foi possível diferenciar a lâmina própria da submucosa, como observado em outras espécies de teleósteos (HALE, 1965; CAO e WANG, 2009; ALBRECHT et al., 2001; FACCIOLI et al., 2014). A camada muscular propriamente dita apresentou duas subcamadas de acordo com a orientação de suas fibras: longitudinal interna e circular externa, com fibras musculares estriadas esqueléticas. O fato da musculatura esofágica estar composta por fibras estriadas permite o regurgitamento voluntário do conteúdo ingerido (MORAES e ALMEIDA, 2014). Levando em consideração o hábito onívoro das espécies estudadas, a musculatura estriada do esôfago é importante para o regurgitamento de itens demasiadamente grandes ou

duros que possam causar danos as paredes do tubo. Além da função de deglutição, o esôfago pode apresentar função osmorregulatória em algumas espécies, de modo que esôfagos mais musculares são atribuídos a espécies de água doce, pois auxiliam na eliminação de água do alimento (SMITH, 1989). A análise histológica não evidenciou um esfíncter na transição entre esôfago e estômago nas espécies estudadas, sendo visualizado apenas uma constrição macroscópica entre as regiões. Segundo Olsson (2011), o retorno do alimento para esôfago é evitado pela musculatura da região cárdica do estômago, que ao se contrair, impede o refluxo.

Após a deglutição o alimento chega ao estômago, onde recebe a denominação de quimo (SEIXAS FILHO et al., 1999; ROSS e PAWLINA, 2012). O estômago das três espécies estudadas foi classificado como cecal em formato de Y e apresentou três regiões: cárdica, fúndica e pilórica, assim como o observado por Albrecht et al. (2001) e Rodrigues et al. (2008) para outras espécies do gênero *Leporinus*. Este tipo de estômago é comumente encontrado em peixes carnívoros e comporta grandes volumes em seu interior pois a região fúndica é muito distensível, sendo por isso característico de espécies que ingerem presas grandes de uma só vez (CLARKE e WITCOMB, 1980; GONÇALVES et al., 2013; FACCIOLI et al., 2014). Porém, Ghosh e Chakrabarti (2015) afirmaram que para peixes herbívoros como *Oreochromis niloticus*, o estômago do tipo cecal proporciona espaço para a retenção de alimentos possibilitando uma hidrólise ácida eficaz de itens de origem vegetal. O estômago cecal em formato de Y para os anostomídeos onívoros pode estar relacionado com a disponibilidade sazonal e qualidade do alimento. No ambiente natural, peixes migradores, como os *Leporinus*, estão sujeitos ao regime hídrico dos rios, sendo que a cheia é a época com maior disponibilidade de alimentos (AGOSTINHO e ZALEWSKI, 1996). Diversos estudos que analisaram o conteúdo estomacal de *L. macrocephalus* destacaram a presença de frutos como pequi e coquinhos que ficam disponíveis em áreas de floresta alagada no período de cheia dos rios (RIBEIRO et al., 2001; RODRIGUES et al., 2008). No conteúdo estomacal de *L. elongatus* e *L. obtusidens*, observou-se predomínio de insetos, macrófitas e vegetais terrestres (FUGI e

HAHN, 1991; MACHIATTI, 1995). Assim sendo, um estômago cecal é importante para as espécies estudadas, tanto para o armazenamento de grande quantidade de quimo, quanto para o melhor aproveitamento de alimentos de baixa digestibilidade como itens de origem vegetal.

A mucosa gástrica apresentou-se revestida por epitélio simples colunar. Em estudos ultraestruturais, observou-se que as células epiteliais apresentaram grânulos eletrondensos no citoplasma apical. De acordo com Naguib et al. (2011), os grânulos de secreção das células epiteliais do estômago de *Schilbe mystus* apresentaram formas e tamanhos variados e foram vistos frequentemente em contato com as membranas celulares apicais para esvaziar seu conteúdo no lúmen gástrico via exocitose. A análise histoquímica revelou a presença de mucossubstâncias apicais neutras (PAS positivas) nas células epiteliais de todas as regiões gástricas nas espécies estudadas. Essas mucossubstâncias estão envolvidas na proteção contra a acidez elevada do estômago (SCOCCO et al., 1998; DOMENEGHINI et al., 2005). Quanto à secreção de mucossubstâncias ácidas, foi observada uma reação forte na região pilórica de *L. elongatus* e *L. obtusidens* e moderada em *L. macrocephalus*. De acordo com Ferraris et al. (1987), as mucossubstâncias ácidas agem como lubrificante para a superfície gástrica e como um tampão para os sucos gástricos altamente ácidos. Ainda, de acordo Spicer e Schulte (1992), mucossubstâncias ácidas são capazes de formar um complexo com a pepsina para estabilizar essa enzima.

Abaixo do epitélio gástrico das espécies estudadas, foi observada a lâmina própria composta por de tecido conjuntivo e numerosas glândulas gástricas. Essas glândulas foram observadas nas regiões cárdica e fúndica, porém estavam ausentes na região pilórica, assim como observado em *Pelteobagrus fulvidraco* (CAO e WANG, 2009) e *Leporinus friderici* (ALBRECHT et al., 2001). As glândulas gástricas em peixes são geralmente tubulares não ramificadas e secretam ácido clorídrico e enzimas gástricas a partir das células oxintopépticas (OSTOS-GARRIDO et al., 1993; NAGUIB et al., 2011). A secreção dessas glândulas desemboca na superfície epitelial através das chamadas criptas ou fossetas gástricas

(JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; GHOSH e CHAKRABARTI, 2015). Para Ghosh e Chakrabarti (2015), a concentração e localização das glândulas gástricas pode ser correlacionada ao hábito alimentar da espécie. Segundo os mesmos autores, espécies predadoras tendem a apresentar maior número de glândulas na região cárdica para fornecer uma rápida secreção de enzimas digestivas necessárias à digestão de presas engolidas vivas, enquanto para peixes herbívoros as glândulas podem estar distribuídas por todo o estômago e em menor concentração. Para espécies onívoras como *L. fridericie* e *L. taeniofasciatus*, Albrecht et al. (2001) afirmaram que a presença de muitas glândulas gástricas está envolvida na digestão de alimentos com altos valores de conversão alimentar frequentemente ingeridos por peixes onívoros. Nesse sentido, o grande número de glândulas gástricas observado nas espécies em estudo está relacionado a digestão de proteínas de baixa qualidade. Ainda, é possível estabelecer uma relação com o fornecimento de rações de menor custo para espécies deste gênero, já que podem aproveitar proteínas de baixa qualidade, que por sua vez são mais baratas, diminuindo os custos da ração.

Nos preparados submetidos a reações histoquímicas, as glândulas gástricas apresentaram reação fraca para PAS e negativa para AB (pH 2,5 e 1,0) em todas as espécies estudadas, assim como o observado por Domeneghini et al. (2005) e Faccioli et al. (2014). Nas fossetas gástricas observou-se intensa reação ao AB (pH 2,5). Este fato pode ser relacionado aos processos de transporte das secreções produzidas pelas glândulas até o lúmen gástrico (DOMENEGHINI et al., 2005).

Sob microscopia eletrônica de transmissão observou-se que as células oxintopépticas das três espécies estudadas apresentaram formato piramidal, núcleo basal com predomínio de cromatina descondensada. O citoplasma perinuclear estava repleto de mitocôndrias alongadas e grânulos eletronlucentes. Essas características foram relacionadas por outros autores com a produção e secreção de pepsinogênio (MATTISON e HOLSTEIN, 1980; OSTOS-GARRIDO et al., 1993; OSTOS-GARRIDO et al., 1996; NAGUIB et al., 2011). No citoplasma apical

observou-se um sistema vesiculotubular de membranas. Alguns autores concluíram que o sistema vesiculotubular apresenta constituição similar à membrana plasmática (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1978; OSTOS-GARRIDO et al., 1993; OSTOS-GARRIDO et al., 1996; GARGIULO et al., 1997). De acordo com Ostos-Garrido et al. (1996), a rede vesiculotubular participa da produção de ácido clorídrico e, em *Anguilla anguilla*, muitas mitocôndrias estão associadas a esta rede, visto que a síntese de ácido clorídrico apresenta alta exigência de energia.

O estômago dos *Leporinus* estudados foi a única região do tubo digestivo na qual foi observado a presença da muscular da mucosa. Esta camada promove a movimentação da mucosa, independente de outros movimentos do tubo digestivo, aumentando o contato da mucosa com o quimo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013) e promovendo movimentação dos fluidos na superfície da mucosa (DÍAZ et al., 2003).

A camada muscular propriamente dita do estômago das espécies estudadas foi composta por fibras musculares lisas dispostas nas subcamadas circular interna e longitudinal externa, assim como o descrito para outras espécies de teleósteos (CARRASÓN et al., 2006; FACCIOLI et al., 2014). A análise histológica evidenciou que a espessura da camada muscular longitudinal externa se manteve praticamente constante ao longo do estômago, enquanto que a camada muscular circular interna foi a responsável pelos espessamentos nas paredes do estômago e formação do esfíncter pilórico. Esta estrutura controla o esvaziamento gástrico, liberando gradativamente o conteúdo estomacal para o intestino, além de evitar o refluxo do quimo (RUST, 2002).

Segundo Gonçalves et al. (2013) a função do intestino em peixes, é completar a digestão iniciada no estômago e promover a absorção de nutrientes, água e íons. O trânsito do alimento no intestino é ocasionado pela atividade peristáltica, resultante da ação conjunta das camadas musculares circular interna e longitudinal externa. Essas camadas se mostraram bem desenvolvidas no intestino das três espécies estudadas, assim como o descrito para outras espécies de peixes (GENTEN et al., 2009; ALBRECHT et al., 2001; FACCIOLI et al., 2014).

O quociente intestinal é um parâmetro amplamente utilizado para dividir os peixes teleósteos em categorias tróficas. Este parâmetro auxilia no estabelecimento das relações entre o comprimento intestinal e os hábitos alimentares (BARBIERI et al., 1994). O comprimento total do intestino em peixes que apresentam estômago é mensurado a partir do esfíncter pilórico, enquanto em peixes agástricos a medida é tomada a partir da porção final do esôfago (ROTTA, 2003). *L. elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens* apresentaram valores de quociente intestinal de  $1,12 \pm 0,12$ ;  $1,27 \pm 0,24$  e  $1,24 \pm 0,16$  respectivamente, estes valores estão de acordo com o padrão para espécies onívoras (BÉRTIN, 1958; BARBIERI et al., 1994; ROTTA, 2003). Estudos de conteúdo estomacal realizados em espécies de *Leporinus* descreveram a ingestão de itens diversificados, dos quais fazem parte alimentos considerados de difícil digestão, como vegetais com elevado teor de lignina, caules e frutos com casca dura (ANGELESCU e GNERI, 1949; FUGI e HAHN, 1991). Alimentos com baixa digestibilidade precisam de mais tempo no tubo digestivo para que possam ser adequadamente aproveitados, sendo intestinos mais compridos correlacionados com espécies herbívoras (GENTEN et al., 2009; GONÇALVES et al., 2013). Porém, embora o quociente intestinal dos onívoros estudados não seja tão alto quanto o de peixes herbívoros (acima de 5), uma zona de maior absorção de nutrientes pode ser alcançada com outras estruturas anatômicas como os cecos pilóricos, que não são considerados no cálculo do índice e assim estas espécies poderiam aproveitar itens pouco digestíveis com maior eficiência.

Os peixes são os únicos vertebrados que apresentam cecos pilóricos. No entanto, nem todas as espécies contam com essas estruturas. De acordo com Kapoor et al. (1975) cerca de 60% das espécies apresentam cecos em seus sistemas digestórios. Essas estruturas são descritas como divertículos digitiformes que evaginam-se da parede do intestino anterior, apresentando tamanho, diâmetro, posição e quantidades diferentes dependendo da espécie estudada (KAPOOR et al., 1975; SEIXAS FILHO et al., 2001). *L. macrocephalus* apresentou 14 cecos, enquanto que *L. elongatus* e *L. obtusidens* apresentaram 12 cecos pilóricos. Porém, Rodrigues

et al. (2008) observaram a presença de 12 cecos em *L. macrocephalus*. De acordo com Seixas Filho et al. (1999), o número de cecos pode variar em indivíduos da mesma espécie. Os mesmos autores destacam que a razão para esta variação não está bem esclarecida. Inicialmente, os cecos foram considerados apenas estruturas de armazenamento (GODINHO et al., 1970). Estudos posteriores demonstraram que os cecos pilóricos complementam as funções do intestino através do aumento da área de superfície para a digestão e absorção e também são locais de reprodução para a flora intestinal (SMITH, 1989; HOSSAIN e DUTTA, 1998; ALBRECHT et al., 2001). Outros estudos compararam os cecos pilóricos ao intestino anterior devido as características histológicas, ultraestruturais e histoquímicas de suas células (KAPOOR et al., 1975; HOSSAIN e DUTTA, 1992). Neste estudo os resultados, morfológicos, histoquímicos e a detecção da fosfatase alcalina na borda em escova dos enterócitos foram similares no intestino anterior e cecos, demonstrando assim a função na digestão e absorção de nutrientes nessas estruturas, complementar ao intestino anterior. Ainda, Hossain e Dutta (1998) afirmaram que quanto maior o tamanho do ceco (comprimento e diâmetro), melhor será a sua eficácia funcional. Embora pouco numerosos, os cecos pilóricos observados nas espécies estudadas são longos, e esta é uma característica importante para o aproveitamento dos itens de difícil digestão que compõe a dieta das espécies estudadas.

Para maximizar a superfície de contato entre o alimento e o epitélio absorptivo, a superfície interna do intestino das espécies estudadas apresentou numerosas pregas. As análises macroscópicas revelaram a presença de pregas circulares no intestino, exceto na região retal e cecos pilóricos. Estas pregas eram mais desenvolvidas na região anterior, diminuindo em altura e espessura na direção posterior. Cao e Wang (2009) associaram as pregas intestinais ao tempo de retenção dos alimentos, e assim, as pregas circulares observadas nas espécies estudadas aumentam o tempo de retenção do quimo para completar a digestão e promover a absorção de nutrientes. Ainda, de acordo com Løkka et al. (2013), o primeiro segmento do intestino em teleósteos é o principal local de absorção de nutrientes e as pregas intestinais mais



desenvolvidas são importantes para aumentar a superfície de contato para a absorção de nutrientes. Em contraposição às pregas circulares do intestino, os cecos pilóricos apresentam pregas longitudinais. Esta característica está relacionada com a facilitação da entrada do alimento no ceco e retorno ao intestino anterior, pois o ceco termina em fundo cego, forçando o alimento a entrar e sair pelo mesmo orifício com auxílio de movimentos peristálticos (HOSSAIN e DUTTA, 1998). A última porção intestinal, o reto, apresentou pregas longitudinais para facilitar o processo de defecação (RODRIGUES et al., 2008).

O epitélio de revestimento do intestino das espécies estudadas apresentou-se simples colunar e composto principalmente por enterócitos e células caliciformes. Os enterócitos compõem a maior parte do epitélio de revestimento intestinal, e tem como principais funções a absorção de nutrientes e secreção enzimática (WILSON e CASTRO, 2010). O citoplasma dos enterócitos apresentou retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido e numerosas mitocôndrias arredondadas ou alongadas. Ainda, foi observada a presença de estruturas fortemente eletrondensas, possivelmente lisossomos. Essas estruturas estavam em maior número nos enterócitos do intestino médio e posterior. Como relatado por muitos autores, os intestinos médio e posterior estão relacionados com absorção de macromoléculas proteicas e digestão final intracelular (HERNÁNDEZ-BLAZQUEZ et al., 2006; BORGES et al., 2010; NAGUIB et al., 2011). Assim, a presença de maior quantidade de lisossomos é necessária para completar a digestão intracelular.

Os enterócitos das espécies estudadas apresentaram numerosas microvilosidades na membrana plasmática apical. Frierson e Foltz (1992) constataram que em *Tilapia aurea* e *Tilapia zilli*, as microvilosidades contribuem com mais de 90% da área total da superfície intestinal. As microvilosidades das três espécies estudadas apresentaram-se mais longas no intestino anterior e cecos pilóricos, diminuindo em direção à região posterior. A altura das microvilosidades do intestino de *Acipenser transmontanus* (RADAELLI et al., 2000) e *Hemisorubim platyrhynchos* (FACIOLLI et al., 2015) também foram maiores na região

anterior. Os mesmos autores associaram essa característica com a máxima capacidade de absorção nesta região intestinal. Assim, a presença de pregas mais espessas e a altura das microvilosidades permitem inferir que o intestino anterior representa o principal sítio de absorção de nutrientes em *L. elongatus*, *L. macrocephalus* e *L. obtusidens*.

Os estudos histoquímicos revelaram reação ao PAS (mucossustâncias neutras) na borda em escova dos enterócitos das espécies estudadas. Além disso, foi observada uma marcação intensa para a fosfatase alcalina no intestino anterior e cecos pilóricos. As mucossustâncias neutras nessa região compõem o glicocálice, associados à emulsificação do alimento em quimo e absorção (MURRAY et al., 1996). De acordo com Stroband et al. (1979), as mucossustâncias neutras em conjunto com a enzima fosfatase alcalina estão relacionados com absorção e transporte de macromoléculas através da membrana.

A enzima fosfatase alcalina pertence a uma família de proteínas ligadas à membrana, ancoradas ao folheto externo da bicamada lipídica através de uma ligação glicosil-fosfatidilinositol (ENGLE et al., 1995). Esta enzima é expressa exclusivamente em enterócitos e tem sido reconhecida como um marcador para diferenciação deste tipo celular (HODIN et al., 1995). Em peixes, diversos estudos têm relacionado a presença da fosfatase alcalina com a intensidade da absorção de nutrientes nos enterócitos (HARPAZ e UNI, 1999; GAWLICKA et al., 2000; DEBNATH et al., 2007). A fosfatase alcalina está relacionada às membranas celulares onde ocorre transporte ativo, atuando na absorção de nutrientes como lipídios, glicose, cálcio, fosfato inorgânico, pequenos peptídeos e aminoácidos (ROUTABY e PORTMANN, 1988; DUPUIS et al., 1991; GAWLICKA et al., 1995). Segundo Villanueva et al. (1997), entre os diferentes papéis fisiológicos que têm sido propostos para fosfatase alcalina intestinal, a desfosforilação de compostos nutricionais parece ser uma função importante no intestino *Cyprinus carpio*, especialmente pela grande quantidade da enzima encontrada no primeiro segmento. De acordo com Kozarić et al. (2004), a atividade de enzimas intestinais em *Sarpa salpa* apresenta uma pequena, mas clara, diferença na distribuição regional ao longo do

intestino, indicando que a digestão intestinal e transporte de nutrientes ocorre principalmente nas regiões anterior e média do intestino.

Adicionalmente, alguns autores destacaram a fosfatase alcalina como um regulador negativo da absorção intestinal de lipídios (NARISAWA et al., 2003; HAKIM et al., 2006; NAKANO et al., 2007), agindo contra a formação de quilomícrons (NAULI et al., 2003; LALLÈS, 2010). De acordo com Lallès (2010), a fosfatase alcalina intestinal também está envolvida na regulação da secreção de bicarbonato, contribuindo para a proteção da mucosa intestinal contra lesões causadas pelos sucos gástricos. Também pode regular o pH do lúmen intestinal por meio da desfosforilação de ATP, visto que quanto maior a concentração de ATP, maior é o pH luminal (MIZUMORI et al., 2009). Portanto, a marcação citoquímica para fosfatase alcalina na região anterior do intestino das espécies estudadas corroboram com esses dados. Os *Leporinus* estudados apresentam estômago com região glandular bem desenvolvida secretando grande quantidade de enzimas e ácidos gástricos. Assim, o controle do pH intestinal, refletido na intensa marcação para fosfatase alcalina na região anterior, é essencial para neutralizar os sucos gástricos e assim possibilitar a digestão alcalina e absorção de nutrientes no intestino.

O segundo tipo celular mais abundante no epitélio intestinal das espécies estudadas são as células caliciformes. Estas foram mais numerosas na porção posterior e no reto em comparação com as demais regiões do intestino. De acordo com Arellano et al. (2001) e Petrinec et al. (2005), o maior número de células caliciformes nas regiões finais do intestino está relacionado à proteção epitelial e lubrificação do bolo fecal. O citoplasma das células caliciformes intestinais apresentou-se repleto de grânulos de secreção. Nos estudos histoquímicos foram evidenciadas reações tanto para mucossustâncias neutras, quanto para ácidas (carboxiladas e sulfatadas). As mucossustâncias neutras estavam presentes em todas as regiões intestinais em intensidade forte para as três espécies estudadas. Em *L. macrocephalus*

as reações para AB (pH 2,5 e 1,0) foram fortes, enquanto que para *L. elongatus* e *L. obtusidens* a reação para AB (pH 1,0) foi fraca apenas no intestino anterior e cecos.

As mucossubstâncias neutras secretadas pelas células caliciformes auxiliam na digestão e absorção de nutrientes, e fornecem cofatores para atividade enzimática (CLARKE e WITCOMB, 1980; ANDERSON, 1986; GRAU et al., 1992; CARRASSÓN et al., 2006). As mucossubstâncias ácidas atuam na lubrificação epitelial para facilitar o trânsito alimentar, devido ao seu caráter altamente hidrofílico, o que confere viscosidade ao muco (GÓES e TABOGA, 2005). Além disso, essas mucossubstâncias protegem o epitélio intestinal contra degradação pela ação das glicosidases (CARRASSÓN et al., 2006). Ainda, segundo Petrinec et al. (2005), a presença de mucossubstâncias, especialmente as sulfatadas no intestino, regulam a transferência de proteínas, íons e fluídos. Diversos autores relataram um aumento de mucossubstâncias ácidas em peixes com parasitas (BOSI et al., 2005; DEZFULI et al., 2010). Em ambiente natural é comum a presença de vários tipos de ectoparasitas, que agem como facilitadores para infestações secundárias, principalmente por helmintos e bacterioses (MORI et al., 2014). De acordo com Bosi et al. (2005), o muco secretado na superfície do intestino forma uma barreira física para prevenção de uma possível ligação do parasita no epitélio e facilita a sua expulsão por movimentos peristálticos. Os estudos de Ribelles et al. (1995) concluíram que a qualidade das mucossubstâncias do tubo digestivo está diretamente relacionada às condições ambientais, que podem afetar a funcionalidade do sistema digestório.

No intestino anterior e cecos pilóricos de *L. elongatus* e *L. macrocephalus*, outro tipo celular foi observado, as células “rodlet” ou células com bastonetes. Várias funções têm sido atribuídas a essas células, principalmente relacionadas com a proteção contra infecções (DEZFULI et al., 1998). As células “rodlet” podem ser encontradas em vários tecidos de peixes teleósteos, geralmente associadas ao epitélio (LEINO, 1996) e, embora também estejam presentes no sistema gastrointestinal, parecem não desempenhar diretamente nenhum papel na digestão e absorção de nutrientes (ALBRECHT et al., 2001). Ainda, Bates et al. (2007),

sugeriram que a enzima fosfatase alcalina intestinal tem papel chave no recrutamento de células do sistema imune durante a colonização bacteriana e inflamação. A origem e recrutamento das células “rodlet” não está totalmente elucidada (FISHELSON et al., 2011). Nesse sentido as células “rodlet” presentes no intestino, possivelmente sejam também recrutadas com auxílio da fosfatase alcalina.

## ***6. CONSIDERAÇÕES FINAIS***

As espécies *Leporinus macrocephalus*, *L. obtusidens* e *L. elongatus*, onívoras de amplo espectro da Região Neotropical, são muito importantes no âmbito da piscicultura nacional tanto para produção destinada a programas de repovoamento de rios, quanto para o mercado consumidor de carne e pesque-pague. Este estudo foi conduzido para compreender a biologia destas espécies e fornecer informações a respeito da morfofisiologia do tubo digestivo para aprimorar as técnicas de criação. A morfologia do tubo digestivo está intimamente relacionada com as características do alimento ingerido, bem como com os hábitos alimentares das espécies. Os dados morfológicos do tubo digestivo são fundamentais para a compreensão da nutrição em peixes e podem auxiliar na interpretação de alterações fisiológicas e patológicas.

No ambiente natural estas espécies estão sujeitas as variações sazonais na disponibilidade de alimentos. Nesse sentido, as características morfofisiológicas observadas permitem o aproveitamento dos itens disponíveis no ambiente em cada período (seca ou cheia dos rios). Ainda, para piscicultura, espécies onívoras são preconizadas devido ao potencial de aproveitamento de proteínas de menor qualidade e maior aceitação de itens diversos, favorecendo assim, a produção de rações de menor custo.

Para peixes onívoros o estabelecimento de um padrão morfofisiológico não é indicado, visto que foram observadas diferenças importantes nos tubos digestivos, das três espécies estudadas tais como intensidade das reações histoquímicas, presença de botões gustativos no esôfago, presença de células “rodlet” no intestino e quantidade de cecos pilóricos. Nesse sentido, destaca-se a importância dos estudos com diferentes espécies de peixes, apesar de apresentarem o mesmo hábito alimentar.

O esôfago das espécies estudadas é um órgão pouco distensível, assim sendo o alimento é triturado por dentes com alto poder de corte na boca e posteriormente escarificado por dentes faríngeos. A camada mucosa apresenta epitélio de revestimento estratificado, com microsaliências superficiais que protegem o epitélio e ancoram mucossustâncias para facilitar a passagem de alimento. Numerosas células caliciformes estão presentes no epitélio de revestimento, secretando grande quantidade de mucossustâncias neutras e ácidas para proteção e lubrificação da superfície

epitelial. Ainda, apenas em *L. macrocephalus* foram observados botões gustativos na região cranial do esôfago. No ambiente natural, a presença desses botões no esôfago está relacionada com a última barreira para seleção do alimento, e com auxílio da musculatura estriada esofágica é possível que o peixe capture o alimento e regurgite-o caso não seja adequado. Esta característica é importante para a captura mais rápida do alimento evitando concorrentes e predadores. Porém, em sistema de piscicultura é necessário verificar mais atentamente a aceitação da ração, visto que o animal pode capturar o alimento na superfície e posteriormente regurgita-lo no fundo do tanque.

O estômago das espécies estudadas é um órgão muito distensível e ao receber o alimento promove o início da digestão luminal, por meio das secreções ácidas e enzimáticas das glândulas gástricas presentes nas regiões cárdica e fúndica. Esta característica é muito interessante em sistemas de produção, pois pode diminuir os custos com manejo de arraçoamento. A proteção epitelial gástrica é realizada por secreções das células epiteliais, que apresentam grande quantidade de mucossustâncias neutras, mas também mucossustâncias ácidas que protegem o epitélio devido a sua atividade antipéptica.

Após iniciada a digestão proteica no estômago, o quimo chega ao intestino que por sua vez complementa a digestão luminal, realiza a digestão na borda em escova e a absorção dos nutrientes. O intestino das espécies estudadas foi dividido em anterior com cecos pilóricos, médio, posterior e reto. Diversas estruturas descritas neste estudo apontam para o intestino anterior como o principal sítio de digestão e absorção. Macroscopicamente, as pregas são mais desenvolvidas no intestino anterior, bem como, microscopicamente, as microvilosidades são mais longas, ampliando o contato do alimento com as enzimas, tanto luminiais como na borda em escova, e aumentando também a superfície de absorção intestinal. Ainda, as análises para a enzima fosfatase alcalina também revelaram uma marcação mais intensa no intestino anterior. Esta enzima está relacionada às membranas celulares onde ocorre transporte ativo e absorção. Cabe destacar que os cecos pilóricos observados nas três espécies estudadas, além da função de aumentar o tempo de passagem do alimento, apresentaram características morfológicas e histoquímicas semelhantes ao intestino anterior, sendo portanto, uma estrutura com função importante na digestão e absorção de nutrientes



tal como o intestino anterior. Os dados de comprimento e estrutura do intestino, sugerem que a utilização de uma ração com ingredientes de baixa digestibilidade pode ser empregada, uma vez que o intestino apresenta várias estruturas relacionadas ao aumento do tempo de retenção do alimento. Ainda, as células caliciformes intestinais estavam mais concentradas no intestino posterior e reto, atuando na secreção de mucossubstâncias para a lubrificação e proteção da superfície intestinal.

No intestino anterior e cecos pilóricos de *L. macrocephalus* e *L. elongatus* foram identificadas células “rodlet” relacionadas ao sistema imune de teleósteos. Nesse sentido, a presença destas células pode estar relacionada com uma resposta mais eficiente frente aos desafios sanitários enfrentados pelos peixes.

Tendo em vista que um dos principais objetivos da piscicultura é a produção de alta qualidade com mínimo custo, as características morfofisiológicas descritas no presente trabalho podem contribuir para o desenvolvimento de dietas mais eficientes para engorda e melhoria do manejo de reprodutores. Além disso, os resultados apresentados são a base para experimentação de técnicas como a restrição alimentar, ingredientes substitutivos e manejo alimentar.

## *7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ABAURREA-EQUISOAÍN, M.A.; NUÑES, M.I.; OSTOS-GARRIDO, M.V. Ultrastructural study of the distal part of the intestine of *Oncorhynchus mykiss*. Absorption of dietary protein. **Micron**, v.24, p.445-450, 1993.
- ABAURREA-EQUISOAÍN, M.A.; OSTOS-GARRIDO, M.V. Cell types in the esophageal epithelium of *Anguilla anguilla* (Pisces, Teleostei). Cytochemical and ultrastructural characteristics. **Micron**, v.27, p.419-429, 1996.
- ABELHA, M.C.F.; AGOSTINHO, A.A.; GOULART, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Acta Scientiarum**, v.23, p.425-431, 2001.
- AGOSTINHO, A.A.; ZALEWSKI, M. **A planície alagável do alto rio paraná: importância e conservao**. Eduem, Maringá, 100p., 1996.
- ALBRECHT, M.P.; FERREIRA, M.F.N.; CARAMASCH, E.P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Caraciformes; Anostomidae). **Journal of Fish Biology**, v.58, p.419-430, 2001.
- ANDERSON, T.A. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* (Pisces, Kyphosidae), in relation to diet. **Journal of Morphology**, v.190, p.109-119, 1986.
- ANGELESCU, V.; GNERI, F. Adaptaciones del aparato digestivo al regimes alimenticios en algunos peces del Rio Uruguay y del Rio de La Plata. **Revista Del Instituto Nacional de Ciencias Naturales**, v.1, p.161-261, 1949.
- ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. A histological and histochemical study of the oesophagus and oesogaster of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. **European Journal of Histochemistry**, v.45, p.279-294, 2001.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada  piscicultura**. 1<sup>a</sup> ed. UFSM, Santa Maria, 350p., 2009.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 1<sup>a</sup> ed. UFSM, Santa Maria, 468p., 2005.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2<sup>a</sup> ed. Revisada e Ampliada. UFSM, Santa Maria, 468p., 2010.
- BANCROFT, J.D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 5<sup>a</sup> ed. Churchill Livingstone. New York, 796p., 2002.
- BARBIERI, G.; PERET, A.C.; VEVANI, J.R. Notas sobre a adaptao do trato digestivo ao regime alimentar em espécies de peixes da região de São Carlos (SP). I. Quociente Intestinal. **Revista Brasileira de Biologia**, v.54, p.63-69, 1994.
- BATES, J.M.; AKERLUND, J.; MITTGE, E.; GUILLEMIN, K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. **Cell Host & Microbe**, v.2, p.371-382, 2007.
- BEERLI, E.L.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F. Alimentao e comportamento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Ciências Agrotécnicas**, v.28, p.149-155, 2004.
- BÉRTIN, L. Appareil digestif. In: GRASS, P.P. **Traité de zoologie**. Paris: Masson, v.13, p.1248-1302, 1958.
- BORGES, J.C.S.; PRESSIONOTTI, L.N.; VICENTE GOMES, V.; CUNHA DA SILVA, J.R.M. Lipidic and proteic absorption in digestive tract of tropical fat snook (*Centropomus parallelus*, Poey 1860). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.386, p.39-44, 2010.

- BORGES, R.Z.; ASSAKAWA, L.F.; CUNHA, A.B.; BIALETZKI, A. Morfologia do trato digestório e dieta de larvas de *Bryconamericus* aff. *iheringii* (Boulenger, 1887) (Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.28, p.51-57, 2006.
- BOSI, G.; ARRIGHI, S.; DI GIANCAMILLO, A.; DOMENEGHINI, C. Histochemistry of glycoconjugates in mucous cells of *Salmo trutta* uninfected and naturally parasitized with intestinal helminths. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.64, p.45-51, 2005.
- BRITSKI, H.A.; BIRINDELLI, J.L.; GARAVELLO, J.C. A new species of *Leporinus* Agassiz, 1829 from the upper Rio Paraná basin (Characiformes, Anostomidae) with redescription of *L. elongatus* Valenciennes, 1850 and *L. obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v.52, p.441-475, 2012.
- BRITSKI, H.A.; SIMILON, K.Z.S.; LOPES B.S. **Peixes do Pantanal: manual de identificação**. 2ª ed. Revisada e Ampliada. Embrapa, Corumbá, 227p., 2007.
- CAO, X.J.; WANG, W.M. Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. **Anatomia Histologia Embryologia**, v.38, p.254-261, 2009.
- CARRASSÓN, M. GRAU, A.; DOPAZO, L.R.; CRESPO, S. A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae). **Histology and Histopathology**, v.21, p.579-593, 2006.
- CLARKE, A.J.; WITCOMB, D.M. A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). **Journal of Fish Biology**, v.16, p.159-170, 1980.
- DEBNATH, D.; PAL, A.K.; SAHU, N.P.; YENGGOKPAM, S.; BARUAH, H.; CHOUDHURY, D.; VENKATESHWARLU, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Labeo rohita* fingerlings fed diets with different crude protein levels. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.146, p.107-114, 2007.
- DEZFULI, B. S.; CAPUANO, S.; MANERA, M. A description of rodlet cells from the alimentary canal of *Anguilla anguilla* and their relationship with parasitic helminths. **Journal of Fish Biology**, v.53, p.1084-1095, 1998.
- DEZFULI, B.S.; PIRONI, F.; CAMPISI, M.; SHINN, A.P.; GIARI, L. The response of intestinal mucous cells to the presence of enteric helminths: their distribution, histochemistry and fine structure. **Journal of Fish Diseases**, v.33, p.481-488, 2010.
- DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; DEVINCENTI, C.V.; GOLDEMBERG, A.L. Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in *Engraulis anchoita*. **Anatomia Histologia Embryologia**, v.32, p.341-346, 2003.
- DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; GOLDEMBERG, A.L. Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. **Acta Histochemica**, v.110, p.76-85, 2008.
- DOMENEGHINI, C.; ARRIGHI, S.; RADAELLI, G.; BOSI, G.; VEGGETTI, A. Histochemical analysis of glycoconjugates secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. **Acta Histochemica**, v.106, p.477-487, 2005.
- DUPUIS, Y.; TARDIVEL, S.; POREMBSKA, Z.; FOURNIER, P. Effect of some phosphatase inhibitors on intestinal calcium transfer. **International Journal of Biochemistry**, v.23, p.175-180, 1991.
- EL HAFEZ, E.A.A.; MOKHTAR, D.M.; ABOU-ELHAMD, A.S.; HASSAN, A.H.S. Comparative histomorphological studies on oesophagus of catfish and grass carp. **Journal of Histology**, v.2013, p.1-10, 2013.
- ELBAL, M.T.; AGULLEIRO, B.A. Histochemical and ultrastructural study of the gut of *Sparus auratus* (Teleostei). **Journal of Submicroscopic Cytology**, v.18, p.335-347, 1986.

- ENGLE, M.J.; MAHMOOD, A.; ALPERS, D.H. Two rat intestinal alkaline phosphatase isoforms with different carboxyl-terminal peptides are both membrane-bound by a glycan phosphatidylinositol linkage. **The Journal of Biological Chemistry**, v.270, p.11935–11940, 1995.
- FACCIOLI, C.K.; CHEDID, R.A.; AMARAL, A.C.; VICENTINI, I.B.F.; VICENTINI, C.A. Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). **Micron**, v.64, p.10-19, 2014.
- FACCIOLI, C.K.; CHEDID, R.A.; MORI, R.H.; AMARAL, A.C.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; VICENTINI, C.A. Ultrastructure of the digestive tract in neotropical carnivorous catfish *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae). **Scanning**, v.9999, p.1–8, 2015.
- FANTA, E. Ação de poluentes sobre tecidos. In: SANTOS, H.S.L. Org. **Histologia de peixes**. Jaboticabal: FUNEP, p.32-37, 1991.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2014. **Aquaculture America 2014**. Disponível em: [https://www.fao.org.br/download/SOFI\\_p.pdf](https://www.fao.org.br/download/SOFI_p.pdf). Acesso em: 01/11/2015.
- FERRARIS, R.P.; TAN, J.D.; de la CRUZ, M.C. Development of the digestive tract of milkfish, *Channos chanos*. **Aquaculture**, v.61, p.241-257, 1987.
- FISHELSON, L.; GOLANI, D.; RUSSELL, B.; GALIL, B.; GOREN, M. Comparative morphology and cytology of the alimentary tract in lizard fishes (Teleostei, Aulopiformes, Synodontidae). **Acta Zoologica**, v.93, p.308-318, 2012.
- FISHELSON, L.; RUSSELL, B.; GOLANI, D.; GOREN, M. Rodlet cells in the alimentary tract of three genera of lizardfishes (Synodontidae, Aulopiformes): more on these enigmatic “gate-guards” of fishes. **Cybium**, v.35, p.121-129, 2011.
- FRIERSON, E.W.; FOLTZ, J.W. Comparison and estimation of absorptive intestinal surface areas in two species of cichlid fish. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.121, p.517–523, 1992.
- FUGI, R.; HAHN, N.S. Espectro alimentar e relações morfológicas com o aparelho digestivo de três espécies de peixe comedoras de fundo do Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v.51, p.873–879, 1991.
- GARAVELLO, J.C.; BRITSKI, H.A. *Leporinus macrocephalus* sp. nov. da bacia do Rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). **Naturalia**, v.13, p.67-74, 1988.
- GARGIULO, A.M. CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C.; PEDINI, V. Ultrastructural study on the stomach of *Tilapia* spp (Teleostei). **Anatomia Histologia Embryologia**, v.26, p.331-336, 1997.
- GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C.; PEDINI, V. Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia* spp.), a hybrid teleost. **Anatomia Histologia Embryologia**, v.27, p.89-94, 1998.
- GAWLICKA, A.; TEH, S.J.; HUNG, S.S.O.; HINTON, D.E.; NOÛE, J. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.14, p.357–371, 1995.
- GAWLICKA, A.; PARENT, B.; HORN, M.H.; ROSS, N.; OPSTAD, I.; TORRISSEN, O.J. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. **Aquaculture**, v.184, p.303–314, 2000.
- GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of Fish Histology**. Science Publishers, Enfueld, 215p., 2009.

- GÉRY, J. **Characoids of the world**. 1ª ed. T.F.H. Publications, Neptune City, 672p., 1977.
- GHOSH, S.K.; CHAKRABARTI, P. Histological and histochemical characterization on stomach of *Mystus cavasius* (Hamilton), *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) and *Gudusia chapra* (Hamilton): Comparative study. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v.70, p.16-24, 2015.
- GODINHO, H., TOKUMARU, M., FERRI, A.G. Histologia do trato digestivo de *Pimelodus maculatus*. **Revista Brasileira de Biologia**, v.30, p.583-593, 1970.
- GODOY, M.P. **Peixes do estado de Santa Catarina**. 1ª ed. UFSC, Florianópolis, 571 p. 1987.
- GÓES, R.M.; TABOGA, S.R. Células caliciformes. In: CARVALHO, H.F.; COLLARES-BUZATO, C.B. (Org.). **A célula. Uma abordagem multidisciplinar**. Manole, São Paulo, v.1, p.163-173, 2005.
- GONÇALVES, L.U.; RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; CARGNIN-FERREIRA, E.; CYRINO, J.E.P. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. In: FRACALOSSI D.M.; CYRINO J.E.P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Aquabio ed, Florianópolis, p.20-34, 2013.
- GRAU, A.; CRESPO, S.; SARASQUETE, M.C.; GONZALES DE CANALES, M.L. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili* Risso: a light and scanning electron microscope study. **Journal of Fish Biology**, v.41, p.287–303, 1992.
- HAHN, N.S.; ANDRIAN, I.F.; FUGI, R.; ALMEIDA, V.L.L. Ecologia trófica. In: VAZZOLER, E.A.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N. S. **A planície de inundação do Alto Rio Paraná**. 1ª ed. EDUEM, Maringá, p. 209-228, 1997.
- HAKIM, Y.; UNI, Z.; HULATA, G.; HARPAZ, S. Relationship between intestinal brush border enzymatic activity and growth rate in tilapias fed diets containing 30% or 48% protein. **Aquaculture**, v.257, p.420–428, 2006.
- HALE, P.A. The morphology and histology of the digestive systems of two freshwater teleosts, *Poecilia reticulata* and *Gasterosteus aculeatus*. **Journal of Zoology**, v.146, p.132–149, 1965.
- HARPAZ, S.; UNI, Z. Activity of intestinal mucosal brush border membrane enzymes in relation to the feeding habits of three aquaculture fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.124, p.155–160, 1999.
- HERNÁNDEZ, D.R.; PÉREZ GIANESELLI, M.; DOMITROVIC, H.A. Morphology, histology and histochemistry of the digestive system of south american catfish (*Rhamdia quelen*). **International Journal of Morphology**, v.27, p.105-111, 2009.
- HERNÁNDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; GUERRA, R.R.; KFOURY JR, J.R.; BOMBONATO, P.P.; COGLIATI, B.; SILVA, J.R.M.C. Fat absorptive processes in the intestine of the Antarctic fish (Richardson, 1844). **Polar Biology**, v.29, p.831-836, 2006.
- HODIN, R.A.; CHAMBERLAIN, S.M.; MENG S. Pattern of rat intestinal brush-border enzyme gene expression changes with epithelial growth state. **American Journal of Physiology**, v.269, p.385–391, 1995.
- HOSSAIN, A.M.; DUTTA, H.M. Assessment of structural and functional similarities and differences between caeca of the bluegill. **Journal of Fish Biology**, v.53, p.1317–1323, 1998.
- HOSSAIN, A.M.; DUTTA, H.M. Role of caeca as food reservoirs in the digestive tract of bluegill sun fish *Lepomis macrochirus*. **Copeia**, v.2, p. 544-577, 1992.
- HUMBERT, W.; KIRSCH, R.; MEISTER, M.F. Scanning electron microscopic study of the oesophageal mucous layer in the eel *Anguilla anguilla* L. **Journal of Fish Biology**, v.25, p.117–122, 1984.

- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12<sup>a</sup> ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 538 p., 2013.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. 1<sup>a</sup> ed. Editora Santos, São Paulo, 122 p., 1983.
- KAPOOR, B.G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I.A. The alimentary canal and digestion in Teleosts. In: Russell FS, Young M, Org. **Advances in marine biology**. London: Academic Press, p.109–239, 1975.
- KARDONG, K.V. **Vertebrados: anatomia comparada, função e evolução**. 5<sup>a</sup> ed. Roca, São Paulo, 928p., 2010.
- KOZARIĆ, Z.; KUŽIR, S.; NEJEDLI, S.; PETRINEC, Z.; SREBOËAN, E. Histochemical distribution of digestive enzymes in hake, *Merluccius merluccius* L. 1758. **Veterinarski arhiv**, v.74, p.299-308. 2004.
- KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados**. 3<sup>a</sup> ed. Revisada e Ampliada, FUNEP, Jundiaí, 145 p., 1999.
- LALLÈS, J.P. Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. **Nutrition Reviews**, v.68, p.323–332, 2010.
- LAURÀ, R.; GERMANA, P.G.; LEVANTI, M.B.; GUERRERA, C.M.; RADAELLI, G.; CARLOS, F.; SUÁREZ, A.A.; CIRIACO, E.; GERMANÀ, A. Rodlet cells development in the intestine of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Microscopy Research and Technique**, v.75, p. 1321–1328, 2012.
- LEINO, R.L. Reaction of rodlet cells to a myxosporean infection in kidney of the bluegill, *Lepomis macrochirus*. **Canadian Journal of Zoology**, v.74, p.217–225, 1996.
- LEKNES, I.L. Histochemical studies on mucin-rich cells in the digestive tract of the Buenos Aires tetra (*Hyphessobrycon anisitsi*). **Acta Histochemica**, v.113, p.353-357, 2011.
- LIEM, K.F.; BEMIS, W.E.; WALKER-Jr., W.F.; GRANDE, L. **Functional Anatomy of the Vertebrates: an evolutionary perspective**. 3<sup>a</sup> ed. Cengage Learning, 703p., 2001.
- LØKKA, G.; AUSTBØ, L.; FALK, K.; BJERKA, I.; KOPPANG, E.O. Intestinal morphology of the wild atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Morphology**, v.274, p.859-876, 2013.
- MACHIATTI, A.J. Alimentação da comunidade de peixes de uma lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu, SP. **Acta Limnológica Brasileira**, v.7, p.115-137, 1995.
- MATTISON, A.; HOLSTEIN, B. The ultrastructure of the gastric glands and its relation to induced secretory activity of cod, *Gadus morhua* (Day). **Acta Physiologica Scandinavica**, v.109, p.51-59, 1980.
- MAZON, A.F.; HUISING, M.O.; TAVERNE-THIELE, A.J.; BASTIAANS J.; VERBURG-VAN KEMENADE, B.M.L. The first appearance of Rodlet cells in carp (*Cyprinus carpio* L.) ontogeny and their possible roles during stress and parasite infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v.22, p.27-37, 2007.
- MIZUMORI, M.; HAM, M.; GUTH, P.H.; ENGEL, E.; KAUNITZ, J.D.; AKIBA, Y. Intestinal alkaline phosphatase regulates protective surface microclimate pH in rat duodenum. **The Journal of Physiology**, v.587, p.3651–3663, 2009.
- MORAES, G.; ALMEIDA, L.C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: BALDISSEROTTO, B. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. FUNEP, Jaboticabal, p.233-252, 2014.

- MORAES, M.F.P.G.; BARBOLA, I.F.; GUEDES, E.A.C. Alimentação e relações morfológicas com o aparelho digestivo do “curimatá”, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Osteichthyes, Prochilodontidae), de uma lagoa do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.14, p.169-180, 1997.
- MORI, R.H.; CHEDID, R.A.; BRACCINI, L.G.; RIBEIRO, R.P.; OLIVEIRA, C.A.L.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; VARGAS, L. Prevalence of ectoparasites and bacteriological diagnosis in Nile tilapia bred in net-tanks in the Corvo's river, Paraná, Brazil. **Revista Semina**, v.36, p.1145-1154, 2015.
- MORRISON, C.M. Histology of the Atlantic cod, *Gadus morhua*: an atlas. Part one. Digestive tract and associated organs. **Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.98, p.1–219, 1987.
- MURRAY, H.M.; WRIGHT, G.M.; GOFF, G.P. A comparative histological and histochemical study of the stomach from three species of Pleuronectid, the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, the yellowtail flounder, *Pleuronectes ferruginea*, and the winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Canadian Journal of Zoology**, v.72, p.1199-1210, 1994.
- MURRAY, H.M.; WRIGHT, G.M.; GOFF, G.P. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of Pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. **Journal of Fish Biology**, v.48, p.187–206, 1996.
- NACHI, A.M.; HERNÁNDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; BARBIERI, R.L.; LEITE, R.G.; FERRI S.; PHAN, M.T. Intestinal histology of a detritivorous (Iliophagous) fish *Prochilodus scrofa* Characiformes, Prochilodontidae. **Annales des Sciences Naturelles**, v.19, p.81–88, 1998.
- NAGUIB, S.A.A.; EI-SHABAKA, H.A.; ASHOUR, F. Comparative histological and ultrastructural studies on the stomach of *Schilbe mystus* and the intestinal swelling of *Labeo niloticus*. **Journal of American Science**, v.7, p.251-263, 2011.
- NAKANO, T.; INOUE, I.; KOYAMA, I.; KANAZAWA, K.; NAKAMURA, K., NARISAWA, S.; TANAKA, K.; AKITA, M.; MASUYAMA, T.; SEO, M.; HOKARI, S.; KATAYAMA, S.; ALPERS, D.H.; MILLÁN, J.L.; KOMODA, T. Disruption of the murine intestinal alkaline phosphatase gene *Akp3* impairs lipid transcytosis and induces visceral fat accumulation and hepatic steatosis. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.292, p.1439–1449, 2007.
- NARISAWA, S.; HUANG, L.; IWASAKI, A.; HASEGAWA, H.; ALPERS, D.H.; MILLAN, J.L. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. **Molecular and Cellular Biology**, v.23, p.7525–7530, 2003.
- NAULI, A.M.; ZHENG, S.; YANG, Q.; LI, R.; JANDACEK, R.; TSO, P. Intestinal alkaline phosphatase release is not associated with chylomicron formation. **American Journal of Physiology**, v.284, p.583–587, 2003.
- NAVARRO, R.D.; MATTA, S.L.P.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; RODRIGUES, S.S.S.; SILVA, R.F.; CALADO, L.L.; RIBEIRO FILHO, O.P. Níveis de energia digestível na dieta de piaçu no desenvolvimento testicular em estágio pós-larval. **Zootecnia Tropical**, v.24, p.153-163, 2006.
- NIKOLSKY, G.V. **The ecology of fishes**. Academic Press, London, 352p. 1963.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Ultrastructural and cytochemical study of the gastric epithelium in a fresh water teleostean fish *Perea fluviatilis*. **Tissue and Cell**, v.10, p.23-37, 1978.
- NOMURA, H. **Dicionário dos peixes do Brasil**. Editerra, Brasília, 482p.1984.



- OLSSON, C. The gut anatomy and morphology: Gut anatomy. In: FARRELL, A.P. (Org.) **Gas exchange, internal homeostatis, and food uptake. Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Enviroment**. Academic Press, San Diego, p.1268-1275, 2011.
- OSTOS-GARRIDO, M.V.; GONZALEZ-OLLER, C.; ABAURREA-EQUISOAÍN, M.A. Effect of diet on gastric mucosa cells in the european eel (*Anguilla anguilla* L.). Histochemical and ultrastructural study. **Micron**, v.27, p.25-34, 1996.
- OSTOS-GARRIDO, M.V.; NUIIEZ TORRES, M.I.; ABAURREA-EQUISOAÍN, M.A. Histological, histochemical and ultrastructural analysis of the gastric mucosa in *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v.115, p.121-132, 1993.
- PARK, J.Y.; KIM, I.S. Histology and mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration. **Journal of Fish Biology**, v.58, p.861-872, 2001.
- PETRINEC, Z.; NEJEDLI, S.; KUZIR, S.; OPACAK, A. Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L.) and european catfish (*Silurus glanis* L.). **Veterinary Archives**, v.75, p.317-327, 2005.
- RADAELLI, G.; DOMENEGHINI, C.; ARRIGHI, S.; FRANCOLINI, M.; MASCARELLO, F. Ultrastructural features of the gut in the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. **Histology and Histopathology**, v.15: p.429-439, 2000.
- REID, P.E.; VOLZ, D.; CHO, K.Y.; OWEN, D.A. A new method for the histochemical demonstration of O-acyl suggars in human colonic epithelial glycoproteins. **The Histochemical Journal**, v.20, p.510-518, 1988.
- REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; MUELBERT, B. Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v.23, p.823-327, 2001.
- RIBEIRO, P.R.; HAYASHI, C.; MARTINS, E.N.; MARTIN NIETO L.; SUSSEL, F.R. Hábito e seletividade alimentar de pós-larvas de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988), submetidas a diferentes dietas em cultivos experimentais. **Acta Scientiarum**, v.23, p.829-834, 2001.
- RIBELLES, A.; CARRASCO, M.C.; ROSETY, M.; ALDANA, M. A histochemical study of the biological effects of sodium dodecyl sulfate on the intestine of the gilthead seabream, *Sparus aurata* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.32, p.131-138, 1995.
- ROBINSON, J.M.; KARNOVSKY, M.J. Ultrastructural localization of several phosphatases with cerium. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v.31, p.1197-1208, 1983.
- RODRIGUES, S.S.; NAVARRO, R.D.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestório de *Leporinus macrocephalus* GARAVELLO & BRITSKI, 1988 (Characiformes, Anostomidae) em relação ao seu hábito alimentar. **Bioscience Journal**, v.24, p.86-95, 2008.
- ROSA, R.S.; LIMA, S.C.T. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: MACHADO, A.B.; DRUMMONG, G.M.; PAGLIA, A.P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, v.2, p.335-337, 2008.
- ROSS, M.H.; PAWLINA, W. **Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology**. 6ª ed. Wolters Kluwer, Nevada, 973p., 2012.
- ROTTA, M.A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Documentos 53**, EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 48p., 2003.
- ROUTABY, C.; PORTMANN, P. Relation between intestinal alkaline phosphatase activity and brush border membrane transport of inorganic phosphate, D-glucose and D-glucose-6-phosphate. **Pflügers Archiv.**, v.412, p.482-490, 1988.

- RUST, M.B. Nutritional physiology. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish nutrition**. Academic Press, San Diego, p.367-505, 2002.
- SARASQUETE, M.C.; GISBERT, E.; RIBEIRO, L.; VIEIRA, L.; DINIS, M.T. Glyconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, Senegal sole, *Solea senegalensis* and Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* development. **European Journal of Histochemistry**, v.45, p.267-278, 2001.
- SATO, Y. Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. (Ed.) **Águas, peixes e pecadores do São Francisco das Minas Gerais**. Editora PUC Minas, Belo Horizonte, p. 229-274. 2003.
- SCOCCO, P.; ACCILI, D.; MENGHI, G.; CECCARELLI, P. Unusual glycoconjugates in the esophagus of a tilapine polyhybrid. **Journal of Fish Biology**, v.53, p.39-48, 1998.
- SEIXAS FILHO, J.T.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; GOMIDE, A.T.M.; MENIN, E. Atividade de amilase em quimo de três espécies tropicais de peixes Teleostei de água doce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.907-913, 1999.
- SEIXAS FILHO, J.T.; BRÁS, J.M.; GOMIDE, A.T.M.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. Anatomia funcional e morfométrica do intestino no Teleostei (Pisces), de água doce surubim (*Pseudoplatystoma corruscans* – Agassiz, 1829). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1670-1680, 2001.
- SIROL, R.N.; BRITTO, S.G. Conservação e manejo da ictiofauna: repovoamento. In: NOGUEIRA, M.G.; HENRY, R.; JORCIN, A. (Ed.). **Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata**. Eduem, São Carlos, p.275-284, 2006.
- SMITH, L.S. Digestive functions in teleosts fishes. In: HALVER, J.E. (Ed.) **Fish nutrition**. Academic Press, San Diego, p.331-421, 1989.
- SOARES, T.R.S.; WATANABE, I.S.; LOPES, R.A.; SEMPRINI, M.; BAHLIS, A.S.; BRENTGANI, L.G.; SATAKE, T. Light and scanning electron microscopic study of the digestive tract in the catfish *Pseudoplatystoma corruscans* Agassiz, 1829 (Pisces, Pimelodidae). **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v.12, p.101-108, 1995.
- SPERRY, D.G., WASSERSUG, R.J. A proposed function for microridges on epithelial cells. **The Anatomical Record**, v.185, p.253-257, 1976.
- SPICER, S.S.; SCHULTE, B.A. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v.40, p.1-38, 1992.
- STROBAND, H.W.J.; KROON, A.G. The development of stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. **Cell and Tissue Research**, v.215, p.397-415, 1981.
- STROBAND, H.W.J.; MEER, H.V.D.; TIMMERMANS, L.P.M. Regional functional differentiation in the gut of the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Histochemical Journal**, v.64, p.235-249, 1979.
- STROBAND, H.W.J.; van der VEEN, F.H. Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Journal of Experimental Zoology**, v.218, p.149-156, 1981.
- SUÍÇMEZ, M.; ULUS, E.A. Study of the anatomy, histology and ultrastructure of the digestive tract of *Orthrias angora* Steindachner, 1897. **Folia biologica**, v.53, 2005.
- TAN, C.K.; TEH, Y.F. The structure of the gut of a coral fish *Chelmon rostratus* Cuvier. **Okajimas Folia Anatomica Japonica**, v.51, p.63-79, 1974.

- TIBBETTS, I.R. The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. **Journal of Fish Biology**, v.50, p.809–820, 1997.
- VARI, R.P. Phylogenetic relationships of the families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae, and Chilodidae (Pisces: Characiformes). **Smithsonian Contributions to Zoology**, v.38, p.60, 1983.
- VILLANUEVA, J.; VANACORE, R.; GOICOECHEA, O.; AMTHAUER, R. Intestinal alkaline phosphatase of the fish *Cyprinus carpio*: regional distribution and membrane association. **The Journal of Experimental Zoology**, v.279, p.347–355, 1997.
- WASSERSUG, R.J.; JOHNSON, R.K. A remarkable pyloric caecum in the evermanellid genus *Coccorella* with notes on gut structure and function in alepisauroid fishes (Pisces, Myctophiformes). **Journal of Zoology**, v.179, p.273–289, 1976.
- WILSON, J.M.; CASTRO, L.F.C. Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: GROSELL, M.; FARELL, A.P.; BRAUNER C.J. (Eds) **Fish physiology: the multifunctional gut of fish**. Academic Press, San Diego, p.55-80, 2010.
- WINEMILLER, K.O.; KELSO-WINEMILLER, L.C.; BRENKERT, A.L. Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v.44, p.235–26, 1995.
- XIONG, D.; ZHANG, L.; YU, H.; XIE, C.; KONG, Y.; ZENG, Y.; HUO, B.; LIU, Z. A study of morphology and histology of the alimentary tract of *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). **Acta Zoologica**, v.92, p.161–169, 2011.
- ZANIBONI-FILHO, E.; NUNER, A.P.O.; FRACOLOSSI, D.M.; MEURER, S.; WEINGARTNER, M.; REYNALTE-TATAJE, D.A. **Ictiofauna do alto rio Uruguai: biologia, conservação e cultivo**. Tractebel, Florianópolis, 131p, 2002.