

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**ESTRUTURA FUNCIONAL DO  
HEPATOPÂNCREAS NO PROCESSO  
DIGESTIVO EM *Macrobrachium amazonicum***

**Janaina Muniz Picolo  
Bióloga**

**Jaboticabal, SP  
2013**

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

**ESTRUTURA FUNCIONAL DO  
HEPATOPÂNCREAS NO PROCESSO  
DIGESTIVO EM *Macrobrachium amazonicum***

**Janaina Muniz Picolo**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Karina Ribeiro**

Dissertação de Mestrado  
apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Aquicultura do Centro  
de Aquicultura da UNESP –  
CAUNESP, como parte das  
exigências para obtenção do título  
de Mestre.

**Jaboticabal, SP**

**2013**

Picolo, Janaina Muniz  
P598e Estrutura funcional do hepatopâncreas no processo digestivo em  
*Macrobrachium amazonicum*. – – Jaboticabal, 2013  
f. 73: il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro  
de Aquicultura da UNESP, 2013.

Orientadora: Irene Bastos Franceschini Vicentini

Co-orientadora: Karina Ribeiro

Banca examinadora: Bruno César Schimming, Maira Aparecida  
Stefanini

Bibliografia

1. *Macrobrachium amazonicum*. 2. Hepatopâncreas. 3. Digestão. I.  
Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura da UNESP.

CDU 639.512

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

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

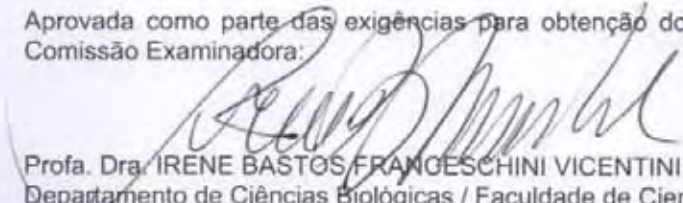
**TÍTULO:** ESTRUTURA FUNCIONAL DO HEPATOPÂNCREAS NO PROCESSO DIGESTIVO EM  
Macrobrachium amazonicum

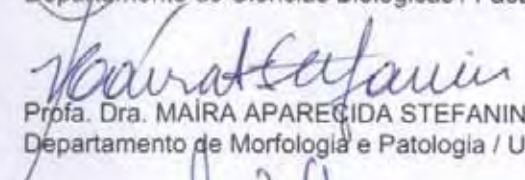
**AUTORA:** JANAINA MUNIZ PICOLO

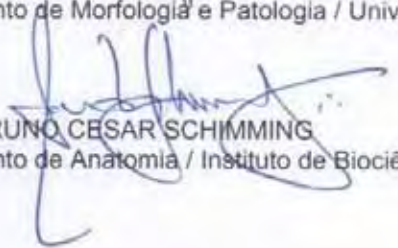
**ORIENTADORA:** Profa. Dra. IRENE BASTOS FRANCESCHINI VICENTINI

**CO-ORIENTADORA:** Profa. Dra. KARINA RIBEIRO

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

  
Profa. Dra. IRENE BASTOS FRANCESCHINI VICENTINI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências de Bauru

  
Profa. Dra. MAÍRA APARECIDA STEFANINI  
Departamento de Morfologia e Patologia / Universidade Federal de Sao Carlos

  
Prof. Dr. BRUNO CESAR SCHIMMING  
Departamento de Anatomia / Instituto de Biociências de Botucatu

Data da realização: 25 de fevereiro de 2013.

*Aos meus avós  
Brasília e Benedito.  
Pelo amor incondicional,  
pela fé sem medidas  
e pelo apoio constante.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A todos os que contribuíram para a realização deste trabalho*

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Irene Bastos Franceschini Vicentini, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pela dedicação, orientação, amizade, apoio e confiança.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Karina Ribeiro, pela co-orientação, e pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos (LAMO) pelo apoio técnico no desenvolvimento deste trabalho e pelo apoio na realização do experimento.

À Faculdade de Ciências e ao Departamento de Ciências Biológicas da UNESP-Bauru, pela formação durante a graduação e durante a pós graduação.

À CAPES e FAPESP pelas bolsas de mestrado concedidas.

Aos membros da banca de defesa, Dr. Bruno Schimming, Dra. Elyara da Silva, Dra. Maíra Stefanini e Dr. Wagner Valenti, pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos meus queridos amigos, Abner, Charlene, Dionis e Renata, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do LAMO, Amaral, Claudemir, Renata, Ricardo, Thiago, Rafaela e Valquíria, pela amizade e companheirismo.

Aos amigos do Setor de Carcinicultura do CAUNESP, Fernanda David e Caio Gomez, pelo cuidado e pela doação dos animais utilizados neste experimento.

Aos funcionários do CAUNESP, Veralice Capato e David Lorente, pela amizade, auxílio, dedicação e prontidão.

*Aos amores de uma vida*

Aos meus avós, Brasilina e Benedito, pelo amor, dedicação, companheirismo, paciência, e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem.

À minha mãe Márcia, pelo amor, carinho e dedicação.

Ao meu pai, Luiz Antônio, que mesmo partindo muito cedo, deixou certeza de amor e carinho.

Ao meu irmão, Leonardo, o melhor presente que já recebi.

Às minhas duas grandes mestres, ambas chamadas Irene. Uma delas minha mestre alfabetizadora, outra minha mestre científica. Não tenho palavras para expressar minha gratidão por vocês.

À minha família UNESPIANA, Abner, Andressa, Ivana, Paty, Michele, Mariana, Fábio, Tiago e Camila, pela amizade, carinho e pela convivência tão agradável. Obrigada por fazerem parte da minha história.

Aos amigos, Paty, Juliana, Dionis, Taíse, Renata, Magaline, Pedro, Lúcia, Junior, Maria Fernanda, Zuza e Valéria, por tornar meus dias mais alegres, por entender minhas ausências e por todo o apoio. Obrigada por estarem sempre presentes.

Às minhas queridas tias Aparecida e Luzia, pelos conselhos, pelas palavras sempre positivas e, principalmente pela fé e confiança depositadas em mim. Boas vibrações não são detidas pela distância, muito obrigada pela torcida!

À minha amada amiga Regina, pelo apoio, pela fé e pela amizade. Obrigada por participar da minha vida de maneira tão especial! Esta conquista, e muitas outras que virão, foram iniciadas por você!

Aos meus amigos de quatro patas, Calvin, Mel e Tom, por me mostrarem todos os dias que a vida é puro amor!

À minha querida amiga, companheira e confidente, Charlene. Obrigada por estar sempre ao meu lado, este trabalho não seria possível sem você!

“Se, na verdade, não estou no mundo para simplesmente a ele me adaptar, mas para transformá-lo; se não é possível mudá-lo sem um certo sonho ou projeto de mundo, devo usar toda possibilidade que tenha para não apenas falar de minha utopia, mas participar de práticas com ela coerentes.”

Paulo Freire



## **SUMÁRIO**

<b>1 - Introdução</b>	13
<b>2 – Literatura</b>	19
2.1 – Influência da Alimentação	25
2.2 – Fisiologia digestiva nos intestinos anterior e médio em decápodos	27
<b>3 – Objetivos</b>	29
<b>4 – Material e Métodos</b>	32
4.1 – Determinação dos Índices Hepatossomáticos	33
4.2 – Determinação dos Índices Gastrossomáticos	33
4.3 – Estudos de microscopia de luz	33
4.4 – Determinação dos Índices Lúmen-tubulares	34
4.5 – Análises Estatísticas	34
<b>5 – Resultados</b>	35
5.1 – Análise do IHS e sua relação com a digestão	36
5.2 – Análise do IGaS e sua relação com a digestão	39
5.3 – Análise histológica do hepatopâncreas durante os ciclos digestivos	41
5.4 – O túbulo hepatopancreático: Relação Área do Lúmen/ Área do túbulo	47
5.5 – Características celulares do epitélio hepatopancreático nos ciclos digestivos	48
<b>6 – Discussão</b>	51
6.1 - Análise do IHS e do IGaS durante os Ciclos Digestivos	52
6.2 - Características do epitélio digestivo durante os ciclos digestivos	54
6.3 - Características das células durante os ciclos	56
<b>7 – Conclusões</b>	60
<b>8 – Referências Bibliográficas</b>	62

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Gráfico das médias dos IHS nos diferentes tempos de PA	37
<b>Figura 2.</b> Gráfico das médias do iGaS nos diferentes tempos de PA	40
<b>Figura 3.</b> Comparação entre as médias dos IHS e iGaS nos diferentes tempos de PA	40
<b>Figura 4.</b> Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de elevado IHS – 0h, 1h, 25h	42
<b>Figura 5.</b> Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de elevado IHS – 43h, 67h, 91h	43
<b>Figura 6.</b> Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de baixo IHS – 19h, 37h, 55h	44
<b>Figura 7.</b> Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de baixo IHS – 55h, 79h, 103h	45
<b>Figura 8.</b> Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de baixo IHS – 103h, 109h, 121h	46
<b>Figura 9.</b> Gráfico das médias dos ILT nos diferentes tempos de PA	47
<b>Figura 10.</b> Fotomicrografias da estrutura geral do hepatopâncreas	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Médias dos IHS e IGaS durante o ciclo digestivo em diferentes tempos de PA	<b>38</b>
<b>Tabela 2.</b> Médias $\pm$ desvios padrão dos IHS e ILT durante o ciclo digestivo	<b>38</b>

## RESUMO

A carcinicultura de água doce é uma forma de produção de crustáceos com baixo impacto ambiental. A espécie brasileira *Macrobrachium amazonicum* tem grande potencial de cultivo e alguns aspectos da sua biologia vêm sendo estudados na última década. O hepatopâncreas (HP) é um órgão chave na digestão de crustáceos. Este órgão está composto por túbulos hepatopancreáticos, cujo epitélio apresenta 5 tipos celulares envolvidos na digestão do alimento. O estômago, por sua vez, apresenta associação íntima ao hepatopâncreas no processo de digestão. Assim o objetivo desse estudo foi avaliar a dinâmica celular do epitélio hepatopancreático nos diferentes períodos de pós alimentação (PA), assim como avaliar as relações de peso relativo ao corpo entre estômago e hepatopâncreas. Para tanto o hepatopâncreas e o estômago de juvenis foram coletados nos tempos de PA de 1h, 7h, 13h, e assim sucessivamente somando-se 6 horas a cada intervalo de coleta, até 121h. O Índice Hepatossomático (IHS) e o Índice Gastrossomático (IGaS) foram aferidos. Os fragmentos de HP foram fixados em Bouin, processados para rotina de inclusão em historresina, e corados com Hematoxilina/Eosina. Após análise, foram observados períodos com elevado IHS seguidos de períodos com baixo IHS ocorridos em todos os 5 dias de observação, assim como foram observados ciclos imediatamente inversos no estômago, com relação ao hepatopâncreas. Nos momentos que correspondem ao elevado IHS é possível observar grande acúmulo de células B, com extrema vacuolização, o que indica digestão intracelular. Nos momentos com baixo IHS é evidente o grande número de células F que produzem enzimas digestivas, e células R que estocam reservas, sugerindo baixa atividade digestiva. Após 24 h de PA, provavelmente os restos não digeridos do HP retornam ao estômago, e voltam a ser distribuídos pelo HP novamente. Assim, as características morfológicas não diferem nos diferentes momentos de elevados IHS, e o mesmo ocorre para os baixos IHS. Este fato é corroborado pela ausência de fezes num período maior que 24h pós alimentação. Através da análise dos períodos de ciclo digestivo, recomendamos que haja

fornecimento de alimento uma vez por dia, estimulando a produção natural de fitoplâncton e zooplâncton nos tanques.

## ABSTRACT

Freshwater shrimp farming is a form of shellfish production with low environmental impact. *Macrobrachium amazonicum*, Brazilian native species, has great potential for cultivation and some aspects of its biology, especially the digestive system, have been studied in the last decade. The hepatopancreas (HP) is a key organ in the digestion of crustaceans. This organ is composed of hepatopancreatic tubules, which present 5 epithelial cell types involved in the digestion of food. The stomach, in turn, presents intimate association with hepatopancreas in the digestion process. Thus the aim of this study was to evaluate the dynamics of the hepatopancreatic cells in different periods after feeding (AF), as well as evaluate the relationships between stomachsomatic and hepatossomatic indices. For both the hepatopancreas and stomach of juveniles were collected in times of AF 1h, 7h, 13h, and so adding six hours to each collection interval until 121h. Hepatosomatic (HSI) and gastrosomatic (GaSI) indices were measured. HP fragments were fixed in Bouin, processed for inclusion in historesin, and stained with hematoxylin/eosin. After analysis, it was observed periods with high HSI followed by periods of low HSI in all five days of observation. IGaS and HSI presented opposing curves. In moments which correspond to the high HSI is possible to observe accumulation of B cells with extreme vacuolization, indicating intracellular digestion according to the literature. In moments of low HSI is evident the large number of F cells that produce digestive enzymes, and cells that accumulate reserves, suggesting low digestive activity. After 24h AF, probably undigested food in HP returns to stomach, and are then distributed to HP again. Thus, the morphological characteristics did not differ at different times of elevated HSI, and the same goes for the low HSI. This is corroborated by the absence of faeces over a period greater than 24 hours after feeding. The analysis of the digestive cycle periods, recommends providing food whenever possible, by offering ration once a day and stimulate the natural production of phytoplankton and zooplankton in the tanks.

# *Introdução*

## 1 – INTRODUÇÃO

Aquicultura é o processo produtivo de organismos cativos, com habitat predominantemente aquático, em qualquer um de seus estágios de desenvolvimento (VALENTI, 2000). É atualmente uma das alternativas mais viáveis para a produção de alimento com alto valor protéico destinado ao consumo humano, num cenário em que há cada vez mais demanda de consumo. Tem papel fundamental na sociedade moderna para a produção de proteína animal, sendo a forma mais eficaz de suprimento protéico para uma população que se mantém crescente (FAO, 2012a).

A aquicultura moderna está baseada em três componentes: produção lucrativa, preservação do ambiente e desenvolvimento social (VALENTI, 2002). Estes são a base para o desenvolvimento sustentável em qualquer atividade. Assim sendo, se trata de uma atividade pouco degradante para os ecossistemas em que está inserida, propicia melhora da qualidade de vida para as comunidades locais e é economicamente viável (VALENTI, 2002).

Neste contexto, o modelo produtivo da carcinicultura de água doce atende aos preceitos da aquicultura sustentável, sendo uma forma de produção lucrativa de crustáceos, com ganhos sociais e baixo impacto ambiental (NEW et al., 2000; VALENTI & MORAES RIODADES, 2004). Além disso, possui características que favorecem o cultivo sustentável em empresas que usam mão de obra familiar (VALENTI, 1998; NEW et al., 2000).

Embora os camarões marinhos liderem os mercados mundiais, a produção de camarões de água doce apresenta várias vantagens, tais como: maior resistência à doenças, maturação e larvicultura mais simples, independência da água salgada na fase de engorda, compatibilidade com pequenas propriedades e menor impacto ambiental (VALENTI, 1996).

A produção mundial de organismos aquáticos cresceu a uma taxa média de 6,3% nos últimos 10 anos (FAO, 2012b). No ano de 2009, o camarão foi produto mais importante em termos de comercialização, representando 15% do



valor total dos produtos pesqueiros comercializados internacionalmente (FAO 2012c). Neste panorama, a criação de camarões de água doce é um dos principais contribuintes para a expansão da aquicultura mundial, tanto em relação à quantidade, quanto em relação a movimentação monetária (NEW, 2010). No entanto o Brasil não contribui para este crescimento, uma vez que a produção reduziu nos últimos cinco anos, e foi estimada em 100 toneladas anuais no ano de 2010 (FAO, 2012c).

As principais espécies de camarões de água doce cultivadas mundialmente são *Macrobrachium nipponense* e *Macrobrachium rosenbergii* (FAO, 2012c). Uma terceira espécie, *Macrobrachium malcolmsonni* vem ganhando espaço na produção mundial, com incremento na produção de pouco mais de 4000% entre 2003 e 2010, passando de 227 toneladas anuais para 9474 toneladas anuais, toda a produção proveniente de seu país de origem, a Índia. Vale ressaltar que a produção de *Macrobrachium nipponense* também ocorre somente em seu país de origem (China), e que teve incremento produtivo de aproximadamente 160% entre os anos de 2001 e 2010 (FAO, 2012c), passando de 86.710 toneladas anuais para 225.645 toneladas anuais. Tais estatísticas demonstram o potencial da utilização das espécies locais para a aquicultura.

Até o presente, *Macrobrachium rosenbergii* é a única espécie cultivada no Brasil em escala comercial. Assim, a carcinicultura de água doce no Brasil está embasada em uma única espécie exótica. Com isso ela corre riscos, pois o surgimento de problemas com esta espécie pode causar o colapso da atividade. Além disso, *Macrobrachium rosenbergii* é uma espécie de origem asiática e não há estudos referentes ao impacto de sua liberação em ambientes naturais brasileiros, embora haja relatos por parte de pescadores que afirmam que houve diminuição da população de camarões nativos quando da introdução desta espécie (ALMEIDA-FUNO et al., 2010). Na aquicultura, escapes de espécies exóticas cultivadas tem sido responsáveis por vários problemas ambientais, tais como a competição e/ou predação em relação às espécies nativas, alterações de habitats e disseminação de patógenos (BRIDGER & GARBER, 2002; MYRICK,

2002). No Brasil, já há relatos de patógenos oriundos de carciniculturas acometendo a população nativa de camarões (NETO, 2006).

Entre as espécies nativas da região leste da América do Sul, *Macrobrachium amazonicum* é o decapode de água doce com maior importância econômica (MACIEL & VALENTI, 2009). No Brasil, esta espécie é largamente explorada por pesca artesanal (ODINEZ-COLLART & MOREIRA, 1993; NEW et al., 2000) e é bem aceita pelas populações de todas as classes sociais do norte e nordeste (MORAES-RIODADES & VALENTI, 2001).

A pesca de algumas espécies de crustáceos para consumo humano tem sido explorada acima da sua capacidade de renovação. Nessas populações pode-se verificar diminuição do tamanho dos espécimes e dos estoques naturais (AMARAL & JABLONSKI, 2005). Estoques naturais de *Macrobrachium amazonicum* também têm sido explorados acima de sua capacidade de renovação, o que tem levado a alterações nas dinâmicas populacionais (SILVA et al., 2007). Freire e Silva (2008) apontam para a necessidade de implantação de políticas sustentáveis para a população pesqueira deste camarão. Neste contexto, segundo Valenti (1993), a carcinicultura se apresenta como uma excelente alternativa para a manutenção das populações selvagens, medida já tomada por vários países que estimulam programas de cultivo em larga escala.

No Brasil, existem três espécies nativas com grande potencial de cultivo: *Macrobrachium acanthurus*, *Macrobrachium amazonicum* e *Macrobrachium carcinus* (VALENTI, 1993). Entre os camarões nativos, *Macrobrachium amazonicum* merece destaque. Esta espécie apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a Venezuela até o estado do Paraná, habitando as bacias do Amazonas, do Orinoco, do São Francisco, do Paraná, dos rios do Nordeste e do Centro-Oeste (HOLTHUIS, 1952; BIALETZKI et al., 1997). Supõe-se que tenha sido introduzido em algumas dessas regiões, mas está totalmente adaptado (GURGEL & MATOS, 1984; MAGALHÃES, 1999). É conhecido como camarão regional no estado do Pará (MORAES-RIODADES et al., 1999), camarão canela e camarão sossego e, atualmente, vem sendo chamado de camarão da amazônia (MORAES-RIODADES & VALENTI, 2001).

O *Macrobrachium amazonicum* é um camarão pequeno, que pode alcançar até 16 cm e 30 g (VALENTI et al., 2003). No entanto, sua carne apresenta textura mais firme e sabor mais acentuado em relação à carne de *Macrobrachium rosenbergii* e, por isso, é mais bem aceita nos mercados consumidores (MORAES-RIODADES et al., 1999), principalmente na região norte (MORAES-RIODADES e VALENTI, 2001) e nordeste (GURGEL & MATOS, 1984).

Embora alguns aspectos da biologia dessas espécies já tenham sido estudados, faltam pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de tecnologia de produção, seja através dos sistemas de cultivo comercial, ou através de exploração racional dos estoques naturais, evitando-se os riscos do seu esgotamento.

Com o intuito de ampliar a produção da espécie *Macrobrachium amazonicum*, muitos estudos vêm sendo realizados, principalmente em relação à ecologia e biologia pesqueira de populações naturais (ODINETZ-COLLART, 1991a; 1991b; ODINETZ-COLLART e MOREIRA, 1993; ODINETZ-COLLART e MAGALHÃES, 1994). Foram investigados outros aspectos, tais como a fecundidade (SCAICO, 1992; RIBEIRO et al., 2011; Da SILVA et al., 2004), o desenvolvimento gonadal (BRAGAGNOLI & GROTTA, 1995; RIBEIRO et al., 2011; PAPA et al., 2004; RIBEIRO, 2006), o desenvolvimento larval (MAGALHÃES, 1985; LOBÃO et al., 1987; ROJAS et al., 1990; CUTOLO & VALENTI, 2005), e a alimentação e manutenção dos animais tanto em laboratório (ROVERSO et al., 1990; LOBÃO et al., 1994; RIBEIRO et al., 2011; PAPA, 2003; CUTOLO e VALENTI, 2005; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009; MACIEL et al., 2012), como em tanques de cultivo (COELHO et al., 1982; RODRIGUES, 2011).

Nos últimos anos, outros fatores vêm sendo investigados sobre a biologia do camarão *Macrobrachium amazonicum*, como por exemplo: testes de laboratório sobre técnicas de estocagem, alimentação, manutenção, crescimento e transporte de pós-larvas (LOBÃO et al., 1987; 1994; 1996; ROJAS et al., 1990; ROVERSO et al., 1990; CUTOLO & VALENTI, 2005; SPERANDIO et al., 2012) e adultos (PAPA, 2003; PAPA et al., 2004, FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009; RIBEIRO et al., 2011) e ciclo de vida totalmente em água doce (PANTALEÃO et al., 2012) . Desta

forma, a avaliação do potencial das espécies de crustáceos para a produção, assim como, os aprimoramentos de técnicas que melhorem seu cultivo estão embasados na ampliação dos conhecimentos sobre ecologia, biologia e alimentação das espécies.

*Literatura*

## 2 – LITERATURA

A nutrição dos camarões é um dos principais problemas da carcinicultura mundial e, neste sentido, muitas vezes problemas atribuídos à nutrição dos animais, poderiam ser sanados com um manejo alimentar correto (ZIMMERMANN, 1998). O que vem acontecendo no Brasil é que a responsabilidade pelos baixos resultados e pelo insucesso dos cultivos é atribuída à falta de uma ração comercial específica e balanceada, enquanto que, muitas vezes, o problema está no manejo dos alimentos e da alimentação (ZIMMERMANN, 1991). Neste sentido, faz-se importante estudos referentes ao tubo digestório do animal, que tem como principal função a manutenção de ciclos digestivos das ingestas (ICELY & NOTT, 1992).

O trato digestório de decápodos é essencialmente um tubo interno, aberto anteriormente nas peças bucais e posteriormente no ânus (ICELY & NOTT, 1992). Em adultos é dividido em três porções principais: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (CECALDI, 1998). No intestino médio está localizado o hepatopâncreas, o maior órgão do animal, com funções vitais, envolvido em diversas atividades metabólicas (GIBSON & BARKER, 1979).

O hepatopâncreas recebe diferentes denominações como fígado, pâncreas, glândula do intestino médio, glândula gástrica, glândula digestiva, cecos anteriores, divertículo digestivo, órgão digestivo, glândula intestinal média e hepatopâncreas (GIBSON e BARKER, 1979). Este órgão está envolvido em diversas funções, como a manutenção do balanço de sais e íons, metabolismo de lipídeos e carboidratos, controle neuroendócrino, ciclo de muda, vitelogênese, reserva de materiais inorgânicos, remoção de corpos estranhos do sistema vascular, excreção de metabólitos e detoxificação por metais e outras substâncias orgânicas (ICELY & NOTT, 1992; GIBSON & BARKER, 1979).

O hepatopâncreas é encarregado de dar continuidade às fases finais do ciclo digestivo, que são: (1) completar a quebra do bolo alimentar recebido do intestino anterior; (2) produzir e suprir enzimas digestivas, inclusive para o intestino anterior; (3) absorver os produtos da digestão e carrear tais produtos

para a hemolinfa, ou armazenar no próprio órgão; (4) remover material residual na forma de fezes (ICELY & NOTT, 1992). As diversas funções deste órgão são refletidas nos diferentes tipos celulares presentes (CECCALDI, 1998).

Este órgão está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade dentre as espécies já estudadas. Nos decápodas, o hepatopâncreas é particularmente bem desenvolvido e forma uma rede complexa de ductos e túbulos em fundo cego, que ocupa a maior parte da cavidade cefalotorácica (GIBSON e BARKER, 1979).

O hepatopâncreas é morfologicamente similar na maioria dos decápodas (GIBSON e BARKER, 1979), e apesar do número de lobos ser variável nas diferentes espécies, em *Macrobrachium amazonicum* este órgão consiste de duas metades unilobulares, uma em cada lado da linha média do animal. As metades direita e esquerda não se conectam entre elas, mas são conectadas separadamente ao intestino através de seus ductos principais correspondentes (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). Estes, por sua vez, originam os ductos secundários que se ramificam amplamente em dúctulos, sendo que cada um termina em um complexo de túbulos em fundo cego (FACTOR, 1981).

Cada túbulo em fundo cego constitui um túbulo digestivo, ou lóbulos hepatopancreáticos, que são considerados como a unidade morfofuncional do hepatopâncreas (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). Os túbulos digestivos estão imersos e suportados por um tecido conjuntivo constituído de fibras colágenas bem definidas, com uma variedade de estruturas, que incluem sinusóides hemolinfáticos, células circulantes da hemolinfa e fibroblastos (FACTOR & NAAR, 1985; 1990). O espaço entre a membrana basal e a lâmina própria do túbulo contém células contráteis, ricas em feixes de miofilamentos. Essas células se dispõem circular e longitudinalmente ao longo do túbulo, formando uma malha de tecido contrátil ao redor da lâmina basal do mesmo (FACTOR & NAAR, 1985; ICELY & NOTT, 1992).

Os túbulos hepatopancreáticos podem ser divididos em regiões distal, média e proximal relativas ao trato digestório principal (VOGT et al., 1989). Internamente esses túbulos estão revestidos por um epitélio colunar simples

(FACTOR & NAAR, 1985; ICELY & NOTT, 1992; BRUNET et al., 1994; CORRÊA Jr et al., 2002), ou no caso de *M. Amazonicum*, pseudoestratificado (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009).

Quatro tipos celulares foram identificados no epitélio de revestimento dos túbulos do hepatopâncreas em decápodos. Os tipos celulares são classificados em E (embrionária), R (reabsortiva), F (fibrilar) e B (vesicular), de acordo com o esquema proposto por Jacobs (1928) e Hirshc & Jacobs (1928). Em alguns decápodos foi identificado um quinto tipo celular denominado de célula M (basal) (Al-MOHANNA et al., 1985b; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). Este tipo celular apóia-se na membrana basal do epitélio, porém não mantém contato com o lúmen do hepatopâncreas (ICELY & NOTT, 1992). A localização destes tipos celulares varia ao longo do comprimento do túbulo hepatopancreático (ICELY & NOTT, 1992; CORRÊA Jr et al., 2002).

As células E estão localizadas na porção distal dos túbulos. Esse tipo celular é responsável pela renovação celular do epitélio dos túbulos hepatopancreáticos (ICELY & NOTT, 1992) e apresenta alta atividade mitótica após a alimentação (Al-MOHANNA et al., 1985a). São indiferenciadas e apresentam núcleo grande que ocupa a maior parte do volume citoplasmático (Al-MOHANNA et al., 1985b; ICELY & NOTT, 1992; RIBEIRO, 2006). O citoplasma apresenta pouco retículo endoplasmático rugoso e liso, mitocôndrias, vesículas limitadas por membranas e muito complexo de Golgi. A divisão contínua da célula E parece estar relacionada com a extrusão da célula B do epitélio de revestimento do túbulo hepatopancreático e, desta forma, provavelmente poderia prover células adicionais uma vez que os túbulos crescem em comprimento a cada muda (Al-MOHANNA & NOTT, 1989).

As células F podem ser localizadas por toda a extensão do túbulo hepatopancreático. Estas células são especializadas em sintetizar e secretar enzimas digestivas durante algumas fases do ciclo alimentar (ICELY & NOTT, 1992). Assim, sua arquitetura corresponde à de uma célula produtora e secretora de proteínas. Seu núcleo está localizado próximo à região basal da célula. O citoplasma apresenta retículo endoplasmático rugoso extenso com numerosos



ribossomos tanto aderidos à membrana quanto dispersos no citoplasma, e numerosas mitocôndrias distribuídas por toda a célula. Os complexos de Golgi são comuns e geralmente apresentam cisternas dilatadas (ICELY e NOTT, 1992; VOGT, 1992; RIBEIRO, 2006). Após a ingestão de alimento estas células apresentam numerosos grânulos de zimogênio. Esses grânulos estão localizados na região apical do citoplasma e são aparentemente sintetizados pelo retículo endoplasmático rugoso e empacotados pelo complexo de Golgi. Desta forma, as células F sintetizam e secretam zimogênio para a digestão extracelular. Subseqüentemente, estas células captam material para a digestão intracelular e se diferenciam em células B. Ainda, as células F apresentam um grande vacúolo supranuclear, podendo formar um reservatório de enzimas antes da alimentação (Al-MOHANNA et al., 1985a).

As células B podem ser encontradas em toda a extensão do túbulo, de acordo com a fase do ciclo digestivo. São diferenciadas a partir das células F e estão envolvidas com a digestão intracelular (Al-MOHANNA & NOTT, 1986b). São os maiores tipos celulares do hepatopâncreas e apresentam um grande vacúolo envolto por uma fina camada de citoplasma. O núcleo está restrito à região basal da célula. O citoplasma apresenta retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias e complexo de Golgi (ICELY e NOTT, 1992; RIBEIRO, 2006). Logo após a alimentação, a porção apical da membrana das células B desenvolve invaginações as quais se estendem como canais para dentro das células, produzindo as vesículas pinocíticas. Com o progresso da digestão o citoplasma é reduzido a uma fina camada marginal na célula. O núcleo está comprimido e localizado basal ou lateralmente, junto com o retículo endoplasmático rugoso e poucas mitocôndrias. Com o avanço do processo de digestão intracelular, pequenas regiões translúcidas aparecem na matriz dos corpos digestivos. Essas regiões aumentam em volume e são completamente substituídas por um material condensado nas inclusões digestivas. Essas inclusões formam grandes vacúolos contendo material amorfo envolto por corpos circulares e estruturas membranosas. As regiões translúcidas fundem-se para formar grandes vacúolos digestivos. No final do processo de digestão intracelular as células B estão

caracterizadas por uma extensa vacuolização. Há uma tendência dos vacúolos aumentarem progressivamente de tamanho e moverem-se basalmente. Eventualmente há um único vacúolo grande contendo esferas densas. Após a digestão celular, as células B iniciam a fase de extrusão. Nessa fase um único vacúolo é formado ocupando grande parte do volume celular. O citoplasma marginal contém, basalmente, poucas mitocôndrias envoltas por retículo endoplasmático rugoso e núcleo achatado (Al-MOHANNA & NOTT, 1986b).

As células R são as mais abundantes nos túbulos hepatopancreáticos dos decápodos. Podem ocorrer na região proximal e medial do túbulo (AL-MOHANNA & NOTT, 1989) ou em toda a extensão do túbulo (CACECI et al., 1988). Estas células absorvem nutrientes solúveis do lúmen do intestino e estocam lipídios e glicogênio (Al-MOHANNA & NOTT, 1989). Desta forma, as células R constituem o principal local de estocagem de lipídios e glicogênio (ICELY & NOTT, 1992). Essencialmente, a função das células R é absorver metabólitos difusíveis do lúmen, e ainda metabólitos difusíveis e pequenas partículas da hemolinfa. Esses metabólitos e partículas são estocados como lipídio e glicogênio no citoplasma (Al-MOHANNA & NOTT, 1987a).

O núcleo dessas células localiza-se na região basal, tendendo a ser pequeno e conter menos cromatina que os núcleos dos demais tipos celulares. O citoplasma apresenta retículo endoplasmático liso associado às invaginações da membrana basal celular, mas também pode ocorrer no citoplasma apical em um estágio específico do ciclo digestivo. Apresenta ainda pouco retículo endoplasmático rugoso, ribossomos livres e numerosas mitocôndrias localizadas principalmente na região apical do citoplasma. O complexo de Golgi está ativo na região medial da célula e apresenta-se associado ao retículo endoplasmático liso na região basal da célula (ICELY e NOTT, 1992; RIBEIRO, 2006).

As células M do hepatopâncreas são conhecidas pelo acúmulo contínuo de material de origem protéica. Os precursores da síntese desse material são provavelmente derivados da hemolinfa ou das células B e R vizinhas, uma vez que não há associação direta das células M com o lúmen celular. Não há evidências de atividade pinocítica na membrana celular, e o transporte dessas

substâncias deve ocorrer por difusão (Al-MOHANNA et al., 1985b). Essas células sofrem alterações na frequência e na estruturação das organelas, durante o ciclo de muda do animal (Al-MOHANNA & NOTT, 1987a). O material acumulado nas células M está contido em um vacúolo maciço, durante todo o período de intermuda, e é utilizado no período de pré e pós-muda (Al-MOHANNA & NOTT, 1989).

### 2.1 - Influência da Alimentação

O hepatopâncreas é responsável pela produção de enzimas digestivas e assimilação de nutrientes. O papel específico dos diferentes tipos celulares no hepatopâncreas tem sido inferido através das observações morfológicas, da localização histoquímica de enzimas digestivas e da assimilação de nutrientes. Observações realizadas nas células do epitélio hepatopancreático revelam a existência de um ciclo digestivo (ICELY e NOTT, 1992).

Estudos realizados em *Penaeus semisulcatus* demonstraram que após 30 minutos até 1 hora da alimentação, as células F apresentam numerosos e densos grânulos de zimogênio (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b). Em *Penaeus monodon*, os vacúolos têm sido observados na região apical do citoplasma da célula F (VOGT et al., 1985), tais vacúolos apresentavam proteases denominadas *Astacus*. A síntese dessa protease é estimulada pela remoção do fluido gástrico do estômago, o qual é preenchido novamente com mais fluídos em 4 horas. A protease *Astacus* é secretada pelas células F e transportada para o estômago para esperar a próxima alimentação (VOGT et al., 1989). As células F não realizam absorção no período em que há descarga de secreções e, ainda, após estas células terem realizado totalmente sua função secretora, elas se diferenciam em célula B. A diferenciação das células F em B é caracterizada pelo aparecimento de numerosas, pequenas e densas vesículas pinocíticas (Al-MOHANNA et al., 1985a). Desta forma essa diferenciação celular corresponde ao final da atividade secretora e o início da absorção de substâncias do lumen (BRUNET et al., 1994).

A absorção de material pelas células B tem início cerca de 30 minutos após a ingestão de alimento e se continua até o final da terceira hora em *Penaeus semisulcatus* (AI-MOHANNA e NOTT, 1986b) ou pode perdurar por um longo período, como em *Carcinus maenas* (HOPKIN & NOTT, 1980). Após a absorção de material, vesículas pinocíticas se coalescem em vacúolos, que, posteriormente, formam grandes corpos vacuolares (AI-MOHANNA & NOTT, 1986b). Os produtos da digestão intracelular são transferidos para a hemolinfa através da lâmina basal ou para células R adjacentes de *Penaeus semisulcatus* (AI-MOHANNA & NOTT, 1986b).

Ao final da digestão as células B são extrusadas do epitélio e são trocadas por células F através da divisão mitótica das células E (AI-MOHANNA & NOTT, 1986b). Desta forma as células B apresentam papel tanto de digestão intracelular como de excreção de produtos residuais do metabolismo digestivo em *Penaeus semisulcatus*.

Em comum com as células B, as células R também modificam sua ultraestrutura durante o ciclo digestivo. As células R maduras, em *Penaeus semisulcatus*, são caracterizadas pelo acúmulo de gotas de lipídio e glicogênio (AI-MOHANNA & NOTT, 1986a). Entretanto em *Penaeus monodon*, essas células estocam apenas lipídios (VOGT et al., 1985). Essa diferença de material celular acumulado pode estar relacionada com o tipo de alimentação oferecida aos animais (BRUNET et al., 1994).

Células R absorvem metabólitos solúveis do lúmen do túbulo, seguido por metabólitos solúveis e pequenas partículas da hemolinfa. As pequenas moléculas são estocadas como lipídios e glicogênio (BRUNET et al, 1994). As células R apresentam ainda a função de detoxificação através da estocagem de metais em uma forma insolúvel dentro de um vacúolo (HOPKIN & NOTT, 1979). As utilizações subseqüentes da maioria das substâncias estocadas nas células R estão principalmente ligadas ao ciclo de muda (AI-MOHANNA & NOTT, 1989).

As células M apresentam desenvolvimento e evolução totalmente ligados ao ciclo de muda (AI-MOHANNA & NOTT 1987b). Durante o período de alimentação o número de células M aumenta, sendo que a estocagem de

glicogênio e material protéico se dá em um grande vacúolo. Quando o animal para de se alimentar, antes e após a muda, esse material é usado para a manutenção da célula (BRUNET et al., 1994).

## *2.2 - Fisiologia digestiva nos intestinos anterior e médio em decápodos*

O intestino anterior é encarregado de processar as fases iniciais do ciclo digestivo, que envolve: (1) quebra física dos materiais ingeridos através da mastigação; (2) quebra química destes mesmos materiais através de enzimas digestivas; (3) separação de fluidos e partículas pequenas através de filtros; (4) transporte dessas pequenas partículas e fluídos para processamento no hepatopâncreas (ICELY & NOTT, 1992). Esta porção do intestino tem origem ectodérmica e, por isso, é revestida por quitina (FACTOR, 1995). Deste modo não há absorção de nutrientes nesta porção do intestino. Embora Dall (1965) tenha demonstrado a absorção de glicose nesta região, a quantidade é ínfima quando comparada ao hepatopâncreas.

As principais características do intestino anterior são uniformes em todo o grupo e são baseada na associação íntima entre estômago e hepatopâncreas para realizar as fases iniciais da digestão (ICELY & NOTT, 1992).

Após as peças bucais, a primeira porção do intestino que o alimento encontra é o esôfago. Esta região se trata de um tubo simples que se estende da boca ao estômago (ICELY & NOTT, 1992). Tem papel importante na produção de muco, através de glândulas esofágicas, que tem a função de lubrificar o bolo alimentar (CONKLIN, 1995; FACTOR, 1995). O final desta porção é marcado pela presença de um esfíncter esofágico e de uma valva esofágica, cujas funções são impedir o retorno do alimento, quando o mesmo alcança o estômago (POWELL, 1974).

Passado o esôfago, o alimento cai na porção cárdica do estômago. Esta porção do estômago tem função de quebra mecânica de grandes partículas, através de placas quitinosas e moinhos, que podem funcionar como verdadeiros

moedores (ICELY & NOTT, 1992). Nesta porção do estômago existem canais que podem levar partículas pequenas mais rapidamente para fases posteriores da digestão. As grandes partículas, por sua vez, ficam retidas e passam pelo processo de moagem. É também na porção cárdica do estômago que começa a quebra química do alimento, através de enzimas provenientes do hepatopâncreas (ICELY & NOTT, 1992; FACTOR, 1995).

Após passar pela câmara cárdica, o alimento processado em pequenas partículas é recebido no estômago pilórico. Entre essas duas porções estomacais existe uma valva, denominada valva cárdica-pilórica, que impede que o conteúdo das duas câmaras se misturem. Assim que chega na câmara pilórica, o alimento passa através de um aparato filtrante, que imediatamente carrega as partículas menores ao hepatopâncreas. As partículas maiores ficam retidas neste aparato, que tem o papel de fazer a abrasão final e a redução das partículas, além de funcionar como um vigoroso misturador entre essas partículas e as enzimas provenientes do hepatopâncreas (ICELY & NOTT, 1992). Assim como na câmara cárdica, na câmara pilórica também existem canais pilóricos, que carregam as partículas menores sem a necessidade de passarem pelo sistema de filtragem (YOUNGE, 1924; LOVETT & FELDER, 1990).

Ao final das porções estomacais existem valvas piloro-intestinais e piloro-hepatopancreáticas, que regulam a entrada de alimento e a saída do bolo fecal do hepatopâncreas (ICELY & NOTT, 1992). As enzimas produzidas pelo hepatopâncreas podem entrar no estômago tanto pela valva pilórica, como pelos canais cárdicos e pilóricos (LOVETT & FELDER, 1990). Assim é possível verificar que existe movimentação de material entre estômago e hepatopâncreas, para posterior envio ao intestino e formação das fezes.

*Objetivos*

### 3 – OBJETIVOS

- Caracterizar a influência da alimentação no peso relativo do hepatopâncreas, para verificar os momentos de concentração de alimento na glândula durante o ciclo digestivo;
- Estabelecer qual relação existe entre as alterações do peso relativo do estômago durante o ciclo digestivo. Desta maneira associar os papéis conjuntos de estômago e hepatopâncreas;
- Analisar, à microscopia de luz, a estrutura funcional do túbulo hepatopancreático durante o ciclo digestivo, para melhor compreensão do envolvimento das células no processo digestivo, proporcionando base científica para experimentos com diferentes períodos de arraçoamento da espécie *Macrobrachium amazonicum* quando em cultivo em escala comercial;
- Realizar análises morfométricas dos túbulos hepatopancreáticos, para associar os diferentes momentos do ciclo com essas medidas. Essa associação auxiliará na compreensão da dinâmica celular do hepatopâncreas durante o ciclo digestivo;



# *Material e Métodos*

#### 4- MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados exemplares juvenis de *Macrobrachium amazonicum*, selecionados aleatoriamente. Os animais obtidos dos viveiros do Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Campus de Jaboticabal – SP, foram transferidos para o Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos (UNESP), Campus de Bauru. Os animais foram aclimatados em caixas plásticas com capacidade de 300 litros (L) por 15 dias, quando foram transferidos para as unidades experimentais. Durante todo período de permanência dos animais nas dependências do Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos, houve limpeza das caixas e das unidades experimentais através de sifonagem no período da manhã, e o fornecimento de alimento no período da tarde.

Tanto as caixas de armazenamento quanto as caixas das unidades experimentais foram munidas de um filtro biológico, com capacidade de 20% do volume útil total da caixa, aeração, termostatos e termômetros para a manutenção da temperatura constante ( $27^{\circ}\text{C}$ ,  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e sua averiguação. Os parâmetros da água, tais como oxigênio dissolvido (mg/l) e pH, e a análise das concentrações dos compostos nitrogenados (amônia e nitrito) foram monitoradas semanalmente usando testes colorimétricos (Labcom Test®).

Cada unidade experimental consistiu de um aquário com capacidade para 2,5l. Foram utilizadas 21 unidades experimentais, sendo que cada uma acondicionou 01 animal por vez. Assim, após o período de aclimação, os animais foram transferidos para as unidades experimentais, mantidos por 3 dias para nova aclimação nessas unidades experimentais e submetidos a jejum por mais três. Nesse momento foi sacrificado o primeiro animal antes de receber alimento, para controle das características celulares do início do processo digestivo, sendo denominados de indivíduos 0h de pós-alimentação (PA). Na sequência, o alimento foi oferecido “ad libidum” aos animais das demais unidades experimentais até que os mesmos recusassem o alimento. Essa recusa foi detectada quando o animal não levava mais o alimento à boca como de costume.

Neste momento, todo o alimento que restava nas unidades experimentais foi retirado por sifonagem, e iniciou-se a contagem das horas de PA. Assim, os animais foram mortos por hipotermia após 1h, 7h, 13h, 19h, 25h, e assim sucessivamente, com intervalos de 06 horas até que se completassem 121 horas de PA, perfazendo um total de 21 tempos diferentes de PA (0h PA até 121h PA). Cabe ressaltar que, para cada tempo, houve cinco réplicas.

#### **4.1 - Determinação dos Índices Hepatosomáticos (IHS)**

Os animais já mortos foram pesados e dissecados para retirada do hepatopâncreas. Cada órgão foi pesado individualmente para avaliação da porcentagem destes em relação ao peso total do animal estabelecendo, portanto, o IHS segundo a equação a seguir:

$$\text{IHS (\%)} = \frac{\text{Peso órgão}}{\text{Peso total}} \times 100$$

#### **4.2 - Determinação dos Índices Gastrossomáticos (IGaS)**

Os animais já mortos foram pesados e dissecados para retirada do estômago. Cada órgão foi pesado individualmente para avaliação da porcentagem destes em relação ao peso total do animal estabelecendo, portanto, o IGaS segundo a equação a seguir:

$$\text{IGaS (\%)} = \frac{\text{Peso órgão}}{\text{Peso total}} \times 100$$

#### **4.3 - Estudos de Microscopia de Luz**

Para análise das características histológicas, os túbulos do hepatopâncreas foram dissecados e fixados por 24 horas em líquido de Bouin. Após fixação, as amostras foram lavadas e mantidas em álcool 70% para inclusão em Histoiresina (Histoiresin – Leica). Foram realizados cortes de 3 µm seriados, e corados com

Hematoxilina e Eosina (H/E). Estes cortes tiveram orientação longitudinal, objetivando a análise das relações morfométricas do túbulo, e da distribuição dos tipos celulares ao longo das regiões proximal, média e distal do túbulo. A análise e a fotodocumentação dos cortes foram realizadas em fotomicroscópio Olympus BX 40 acoplado a um sistema de câmera digital Olympus DP12.

#### **4.4 - Determinação dos Índices Lúmen-tubulares (ILT)**

Para análise morfométrica foram utilizados os cortes histológicos longitudinais dos túbulos do hepatopâncreas de *M. amazonicum* corados com HE. Os cortes seriados do túbulo serviram para estabelecer os cortes que representaram o plano mediano do túbulo. Desta maneira foram avaliados três animais para cada tempo de PA, com três túbulos cada, sendo analisados três cortes de cada túbulo. Escolhidos os cortes a serem medidos em cada túbulo, de cada um dos animais, nos diferentes tempos de PA, foram aferidas a área do lúmen e a área total do túbulo. As medições foram feitas através do programa Image-Pro Plus 4.1, da Media Cybernetics.

Tomadas as medidas, foi aplicada a equação abaixo para a determinação da porcentagem da área total do lúmen em relação à área total do túbulo, estabelecendo-se o índice lúmen-tubular (ILT).

$$\text{ILT (\%)} = \frac{\text{Área do lúmen}}{\text{Área do túbulo}} \times 100$$

#### **4.5 - Análises estatísticas**

O delineamento experimental consistiu de blocos inteiramente casualizados, com 5 réplicas por tratamento. A normalidade dos dados foi verificada através do teste Shapiro-wilk. Quando os dados seguiam a distribuição normal, a comparação entre os tratamentos foi realizada através da análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey. Contudo quando os dados não seguiram a distribuição normal, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn's.

*Resultados*

## 5 - RESULTADOS

### 5.1 - Análise do Índice Hepatosomático (IHS) e sua relação com a digestão

Este estudo revelou que existem períodos com elevados IHS seguidos de períodos com baixo IHS, nos 5 dias de experimento. Desta maneira, com uma única oferta de alimento observou-se longo período de processamento do mesmo, sendo que durante o experimento aconteceram cinco ciclos digestivos. Cada ciclo foi demarcado inicialmente por um baixo IHS, que corresponde ao hepatopâncreas vazio, seguido por um elevado IHS, correspondendo ao hepatopâncreas com muito alimento. O final do ciclo foi marcado por um novo esvaziamento do hepatopâncreas, que corresponde novamente ao baixo IHS. Este final do ciclo digestivo corresponde ao começo de um novo ciclo (Fig. 1).

Após o período de aclimação e dois dias sem alimento, o primeiro ciclo teve início a partir do momento em que alimento foi oferecido ao animal, e durou 19h. Neste período, a primeira hora corresponde à entrada de alimento para o hepatopâncreas, e as 18 horas seguintes correspondem ao processamento deste alimento pelo órgão (Fig. 1).

O segundo ciclo se continua ao término do primeiro. Tem duração total de 18h, com a entrada de alimento ao hepatopâncreas nas 6 primeiras horas. As demais 12 horas correspondem ao processamento do alimento. Este ciclo se iniciou às 19h de PA e tem fim às 37h de PA. O terceiro ciclo mostra curva semelhante ao segundo, tendo início às 37h e fim às 55h de PA (Fig. 1).

No quarto e o quinto ciclos as curvas se apresentam semelhantes entre si, mas diferem dos ciclos anteriores. Estes ciclos duram em média 24 horas, com períodos de entrada e processamento de alimento de 12 horas cada um. O quarto ciclo se inicia em 55h de PA e termina em 79h de PA, enquanto que o quinto se inicia em 79h de PA e termina em 103h de PA (Fig 1). Após as 103h de PA o IHS não apresentou alterações que caracterizassem um ciclo (Fig. 1; Tabela 1).

Figura 1

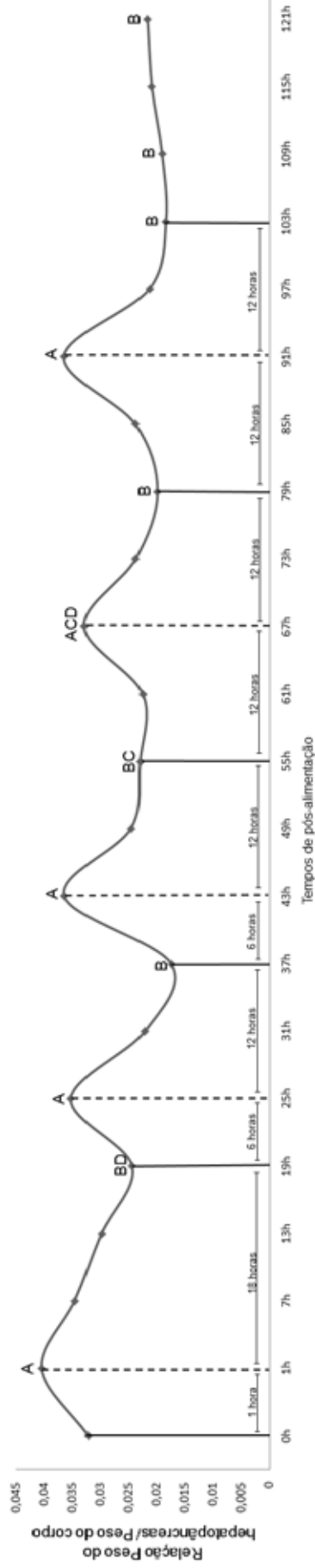


Figura 1. Média dos IHS nos diferentes tempos de PA. Barras verticais contínuas indicam o início e o término de cada ciclo. Barras verticais pontilhadas indicam a divisão do ciclo nos períodos de aporte e de processamento alimentar. Barras horizontais indicam a duração do período. Pontos seguidos por letras iguais não diferem significativamente, e pontos seguidos por letras diferentes diferem significativamente. Significativo ( $p < 0,05$ ); não significativos ( $p > 0,05$ ).

Estatisticamente, não houve diferenças significativas entre os elevados IHS (tempos de PA de 1h, 7h, 25h, 43h, 67h, 91h), assim como também não houve diferenças significativas entre os baixos IHS (tempos de PA 13h, 31h, 37h, 49h, 55h, 61h, 73h, 79h, 85h, 97h, 103h, 109h, 115h, 121h) (Fig. 1). Ainda, os IHS dos diferentes tempos foram agrupados em dois grupos, ou seja, elevados IHS e baixos IHS. A análise estatística entre esses dois novos grupos apresentou diferenças significativas (Tabela 2).

**Tabela 1.** Médias dos IHS e IGaS durante o ciclo digestivo em *M. amazonicum* nos diferentes tempos de PA.

TEMPO	0h	1h	7h	13h	19h	25h	31h	37h	43h	49h	55h
IHS	0,032	0,040	0,034	0,029	0,024	0,035	0,022	0,017	0,036	0,024	0,022
IGaS	0,005	0,018	0,009	0,006	0,008	0,005	0,004	0,008	0,005	0,005	0,008

TEMPO	61h	67h	73h	79h	85h	91h	97h	103h	109h	115h	121h
IHS	0,022	0,032	0,023	0,019	0,023	0,036	0,021	0,018	0,019	0,020	0,021
IGaS	0,006	0,005	0,005	0,0060	0,006	0,005	0,006	0,00	0,005	0,005	0,005

**Tabela 2.** Médias  $\pm$  desvios padrão dos IHS e ILT durante o ciclo digestivo em *M. amazonicum*.

Variável	Geral	Baixos	Altos	p
IHS	0,0264 $\pm$ 0,008	0,0222 $\pm$ 0,005	0,0354 $\pm$ 0,005	< 0,001
ILT	0,1009 $\pm$ 0,096	0,0220 $\pm$ 0,025	0,0161 $\pm$ 0,092	< 0,001

Valores de "P" se referem à comparação entre elevados e baixos índices da variável (P<0,05 diferem significamente).



## 5.2 – Análise do Índice Gastrossomático (IGaS) e sua relação com a digestão

A análise do IGaS revelou a existência de quatro ciclos no estômago após uma única alimentação. Assim como nos ciclos digestivos do hepatopâncreas, os ciclos do estômago são marcados por um baixo IGaS, que corresponde ao estômago vazio, seguido por um elevado IGaS, que corresponde ao estômago cheio. O final do ciclo é demarcado por uma baixa no IGaS, que além de pontuar o final do ciclo corrente, marca o início do próximo ciclo.

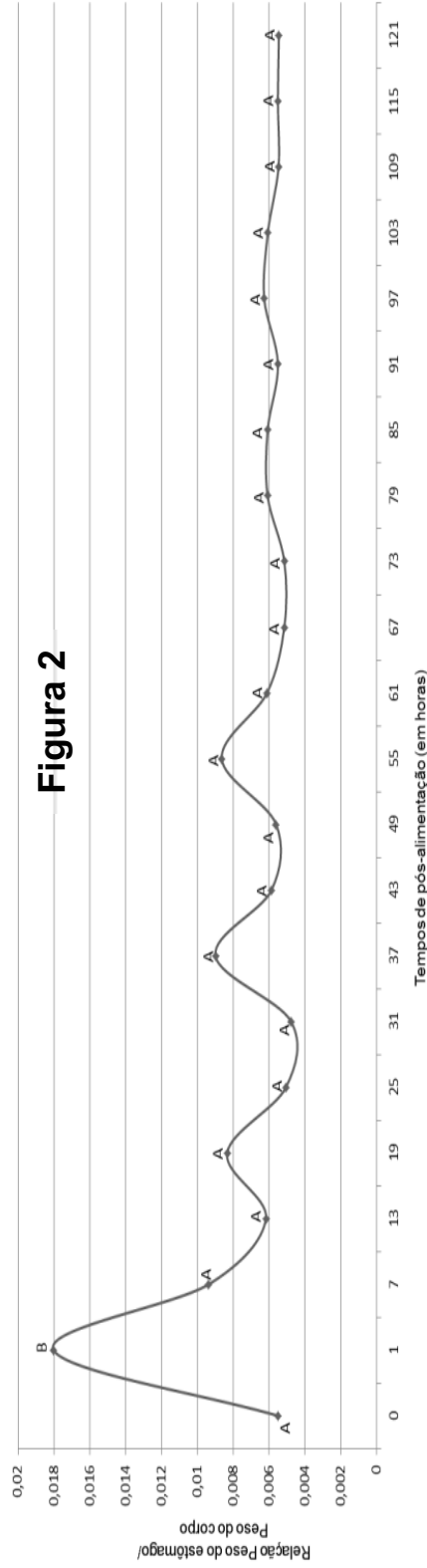
O primeiro ciclo se inicia logo após a alimentação. Tem duração média de 13 horas, sendo a primeira hora correspondente à entrada de alimento no estômago, e as 12 horas seguintes correspondentes à saída de alimento do mesmo. Este ciclo possui o mais elevado IGaS (Fig. 2).

O segundo ciclo se continua ao primeiro. Tem duração média de 15 horas, iniciando às 13h de PA. O retorno do alimento do hepatopâncreas para o estômago eleva o IGaS em torno das 19h de PA, finalmente, o ciclo se encerra por volta das 28h de PA com um novo esvaziamento do estômago (Fig. 2).

O terceiro e o quarto ciclo possuem curvas semelhantes. Ambos duram cerca de 18h, com tempo de retorno alimentar do hepatopâncreas e de esvaziamento do estômago de 9 horas cada período. O terceiro ciclo tem início às 28h de PA e finda às 46h de PA., enquanto que o quarto ciclo tem início às 46h de PA e finda às 64h de PA (Fig. 2).

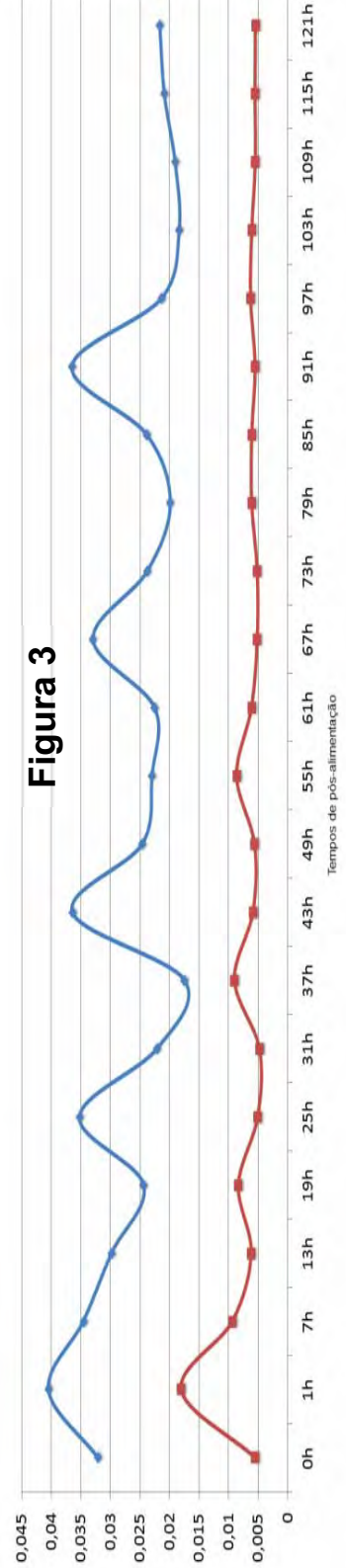
As análises estatísticas revelaram diferença significativa entre os IGaS de 1h PA dos demais IGaS nos tempos analisados. A análise conjunta do IHS e do IGaS mostrou que há relação entre estes órgãos durante seus respectivos ciclos. Após 1h de PA ambos os órgãos apresentam elevado peso relativo em relação ao corpo. Após este momento, os três ciclos seguintes apresentam elevados e baixos valores de IHS e IGaS em momentos alternados nas curvas correspondentes. A partir do quarto elevado IHS, o IGaS se mantém constante (Fig. 3).

**Figura 2**



**Figura 2.** Média dos IGaS nos diferentes tempos de PA. Pontos seguidos por letras diferentes diferem significativamente entre si. Significativo  $p \leq 0,05$ ; não significativo  $p > 0,05$ .

**Figura 3**



**Figura 3.** Média dos IHS (linha azul) e do IGAS (linha vermelha) nos diferentes tempos de PA.

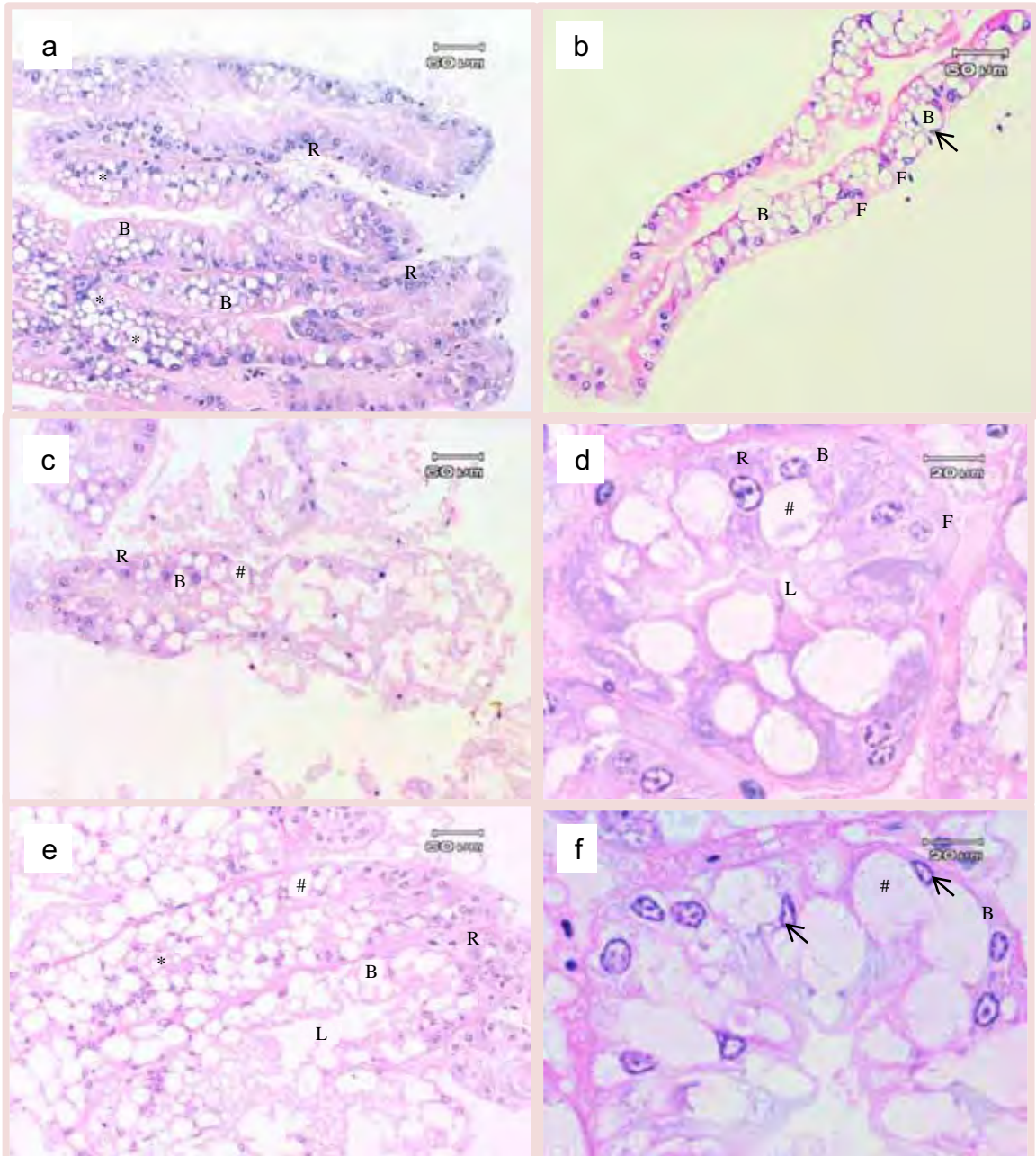
### *5.3 - Análise Histológica do Hepatopâncreas durante os Ciclos Digestivos*

Baseando-se nos ciclos digestivos (Fig. 1), a micro-estrutura do hepatopâncreas nos tempos de PA de baixos e elevados IHS foram analisados histologicamente. A estrutura histológica do hepatopâncreas apresentou o mesmo padrão, no que se refere à população celular tubular, nos tempos de PA em que os IHS foram semelhantes. Assim, na estrutura tubular com elevado IHS (Figs. 01, 04, 05), pode-se observar grande quantidade de células B, com muita vacuolização, dispersas ao longo do comprimento do túbulo; poucas células F e R, limitadas à região distal dos túbulos; e células E dispostas na extremidade em fundo cegos do túbulos. Nestes tempos de PA o lúmen tubular sempre apresentou área reduzida .

Os túbulos nos tempos de PA com baixos IHS analisados correspondem ao início e ao fim de cada ciclo (Fig. 1). As características histológicas do túbulo hepatopancreático nesses tempos se mostrou muito semelhante. As células R e F são facilmente observadas ao longo do comprimento do túbulo, com predomínio das células F. As células B são raras e apresentam um único vacúolo supranuclear, e podem ser observadas nas regiões média e proximal. As células E estão posicionadas na extremidade distal do túbulo, e não alteram a sua distribuição em nenhum momento do ciclo digestivo (Figs. 4, 5, 6 e 7).

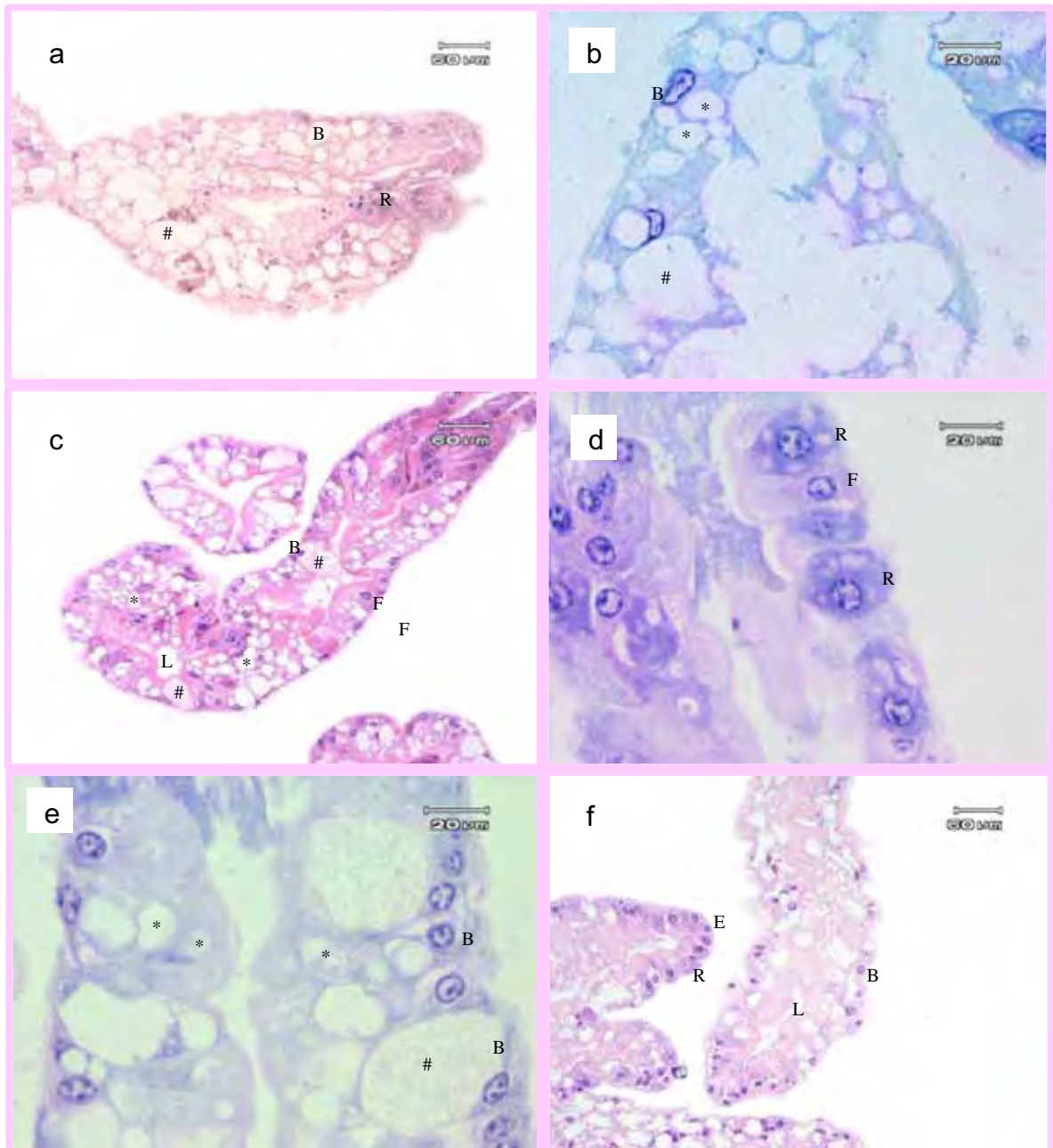
Nos tempos de 103 a 121h PA (Figs. 12 e 13), não houve demarcação de ciclo digestivo (Fig. 1). Em ambos os tempos as características histológicas são semelhantes ao hepatopâncreas com baixo IHS. No entanto, em algumas regiões dos túbulos, pode-se notar que o epitélio pseudoestratificado passou a ser cúbico (Fig. 8).

**Figura 4**



**Figura 4.** Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de elevado IHS. (a) e (b): 0h de PA; (c) e (d): 1h de PA; (e) e (f): 25h de PA. Detalhes em destaque: células reabsortivas R; células vesiculares B; vesículas das células vesiculares \*; vacúolos das células vesiculares #; células fibrilares F; lúmen L; núcleo das células B indicados pelas setas. Coloração: HE.

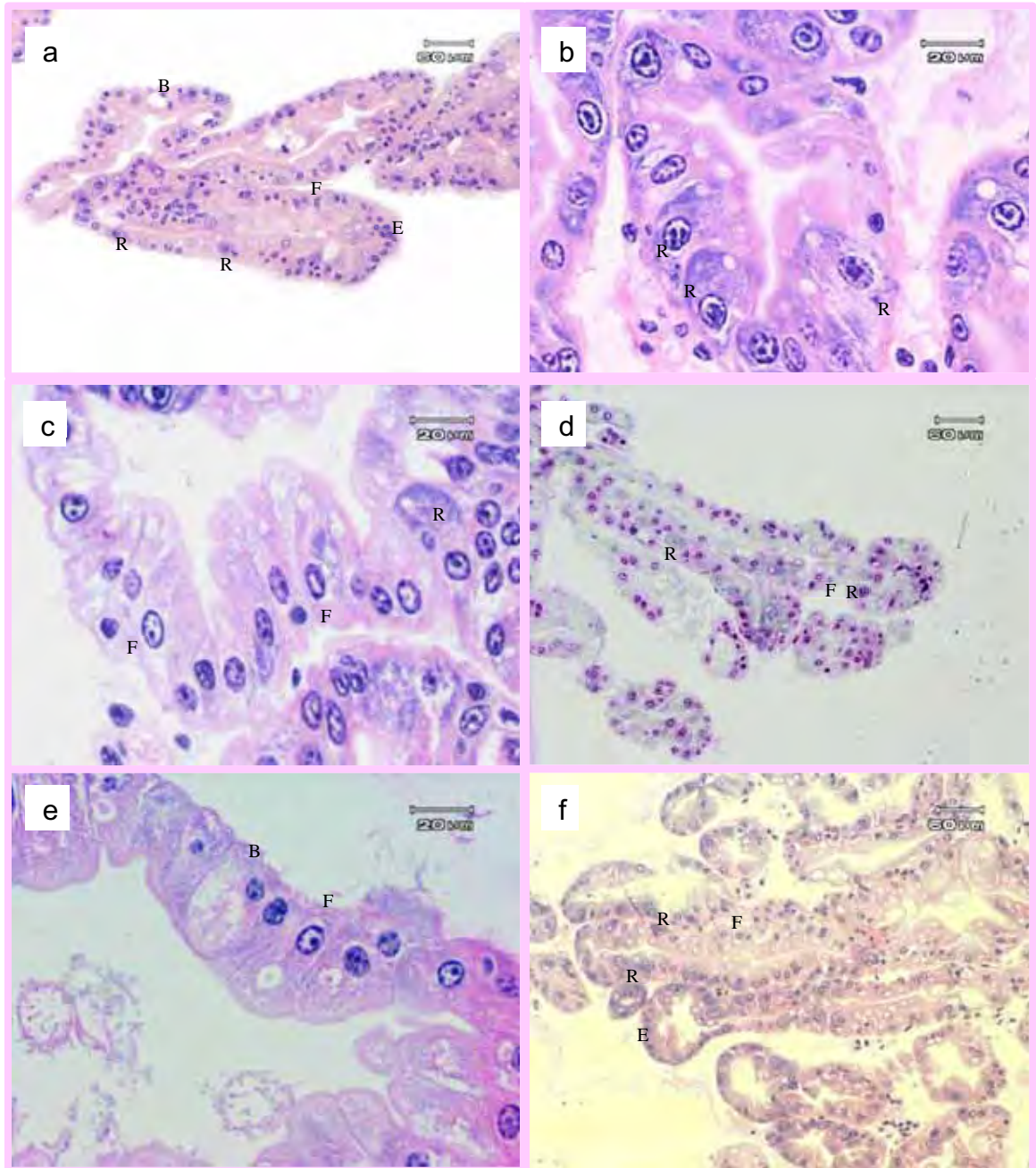
**Figura 5**



**Figura 5.** Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de elevado IHS. (a) e (b): 43h de PA; (c), (d) e (e): 67h de PA; (f): 91h de PA. Detalhes em destaque: células reabsorptivas R; células vesiculares B; vesículas das células vesiculares \*; vacúolos das células vesiculares #; células fibrilares F; lúmen L. Coloração: HE.

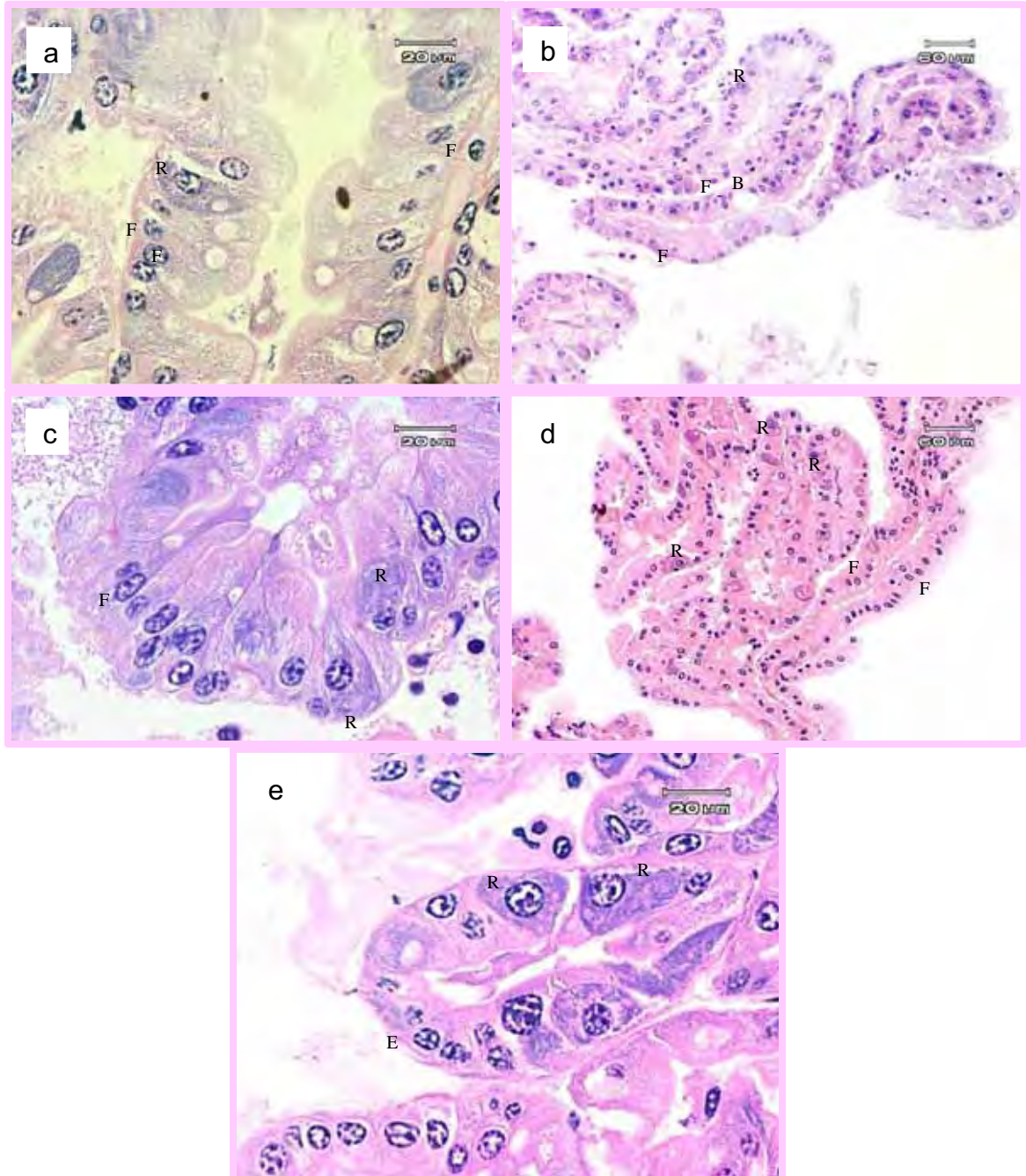


**Figura 6**



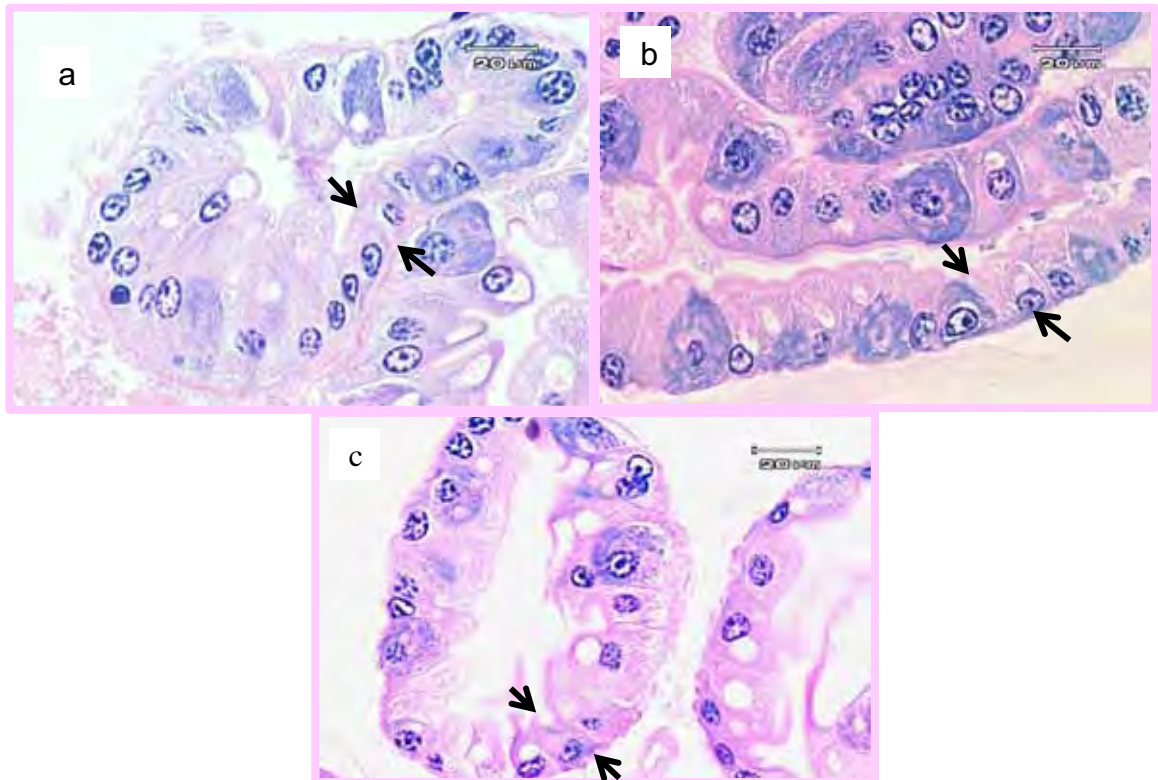
**Figura 6.** Fotomicrografias dos túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de baixo IHS. (a), (b) e (c): 19h de PA; (d) e (e): 37h de PA; (f): 55h de PA. Detalhes em destaque: células reabsortivas R; células vesiculares B; células fibrilares F; células embrionárias E. Coloração: HE

**Figura 7**



**Figura 7.** Túbulos hepatopancreáticos em baixos tempos de PA. (a): 55h de PA; (b) e (c): 79h de PA; (d) e (e): 103h de PA. Detalhes em destaque: células reabsortivas R; células vesiculares B; células fibrilares F; células embrionárias E. Coloração: HE.

**Figura 8**

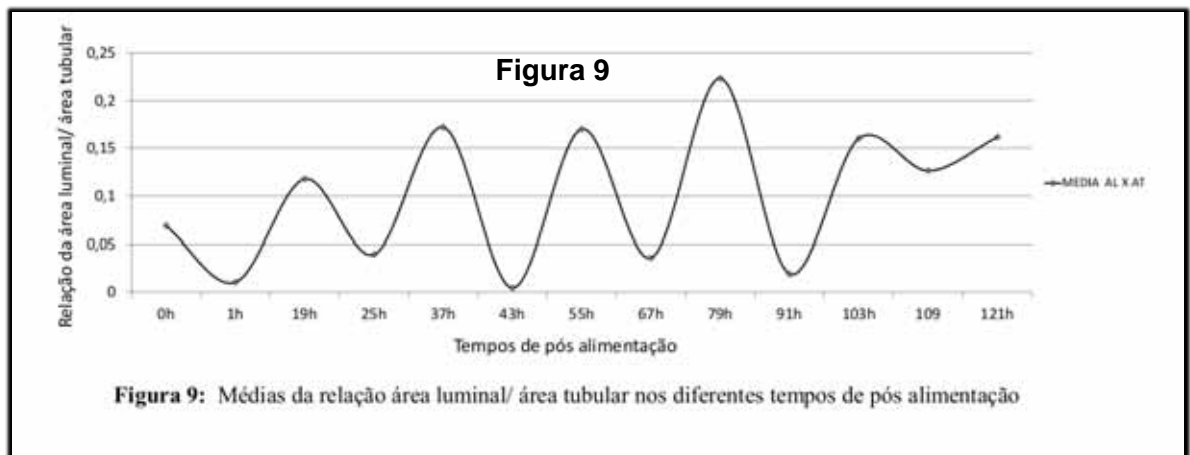


**Figura 8.** Túbulos hepatopancreáticos em tempos de PA de baixo IHS, em momentos em que não há demarcação de ciclo. Em (a) e (b) 103h de PA; (c) 121h de PA. Detalhe para o estreitamento do epitélio entre setas. Coloração: HE.



#### 5.4 - O Túbulo Hepatopancreático: Relação Área do Lúmen / Área do Túbulo

A relação de área entre os túbulos hepatopancreáticos e seus respectivos lúmens também mostrou variações cíclicas. Assim, a proporção AL/AT mostrou 7 momentos de elevado Índice Lúmen Tubular (ILT) ao longo dos 5 dias de experimento (Fig. 9). O elevado ILT corresponde aos momentos quando a área do lúmen tubular apresenta-se ampla em relação à área total do túbulo. Esses momentos do ciclo digestivo correspondem aos tempos de IHS baixo. Também foram registrados 5 momentos durante o experimento que mostraram baixo ILT (Fig. 9). Os baixos ILT indicam que a área do lúmen é reduzida quando comparada aos elevados ILT. Os momentos de baixo ILT coincidem com os tempos de elevados IHS. As análises estatísticas entre os grupos com elevado ILT e baixo ILT mostraram diferenças significativas entre si, com  $p < 0,001$  (tabela 2).



### *5.5 - Características celulares do epitélio hepatopancreático nos ciclos digestivos*

O hepatopâncreas se localiza na cavidade cefalotorácica, ocupando grande volume dessa cavidade. O IHS médio encontrado foi de 2,64% do peso do animal (Tabela 1). O valor máximo encontrado foi de 5,7% do peso do animal em um indivíduo alimentado há 1h de PA, e o valor mínimo foi de 1,1% em um indivíduo em estado de inanição, 103h pós alimentação.

O hepatopâncreas está organizado em dois lobos, cada um disposto em um lado da linha média do animal. Os lobos são constituídos por uma rede de túbulos secretores ou túbulos hepatopancreáticos, que terminam em fundo cego. Entre os túbulos há tecido conjuntivo frouxo, por onde corre a hemolinfa, e em torno dos túbulos ocorrem células mioepiteliais (Fig. 10a). Nestes túbulos puderam se observar “brotamentos” de novos túbulos, assim como a continuidade das porções proximais de diferentes túbulos, formando uma única porção que se mostra funcional (Fig. 10).

Os túbulos são revestidos por um epitélio pseudoestratificado composto principalmente por quatro tipos celulares, que são: células embrionárias E, células fibrilares F, células vesiculares B e células reabsortivas R. Os túbulos podem ser divididos em porção distal, média e proximal, em relação ao ducto principal do hepatopâncreas (Fig. 10a). A distribuição desses tipos celulares nas regiões acima citadas varia de acordo com a fase do ciclo digestivo.

As células E sempre estão dispostas na porção distal do túbulo. Essas células são cúbicas e apresentam núcleo arredondado com vários nucléolos, e citoplasma basófilo.

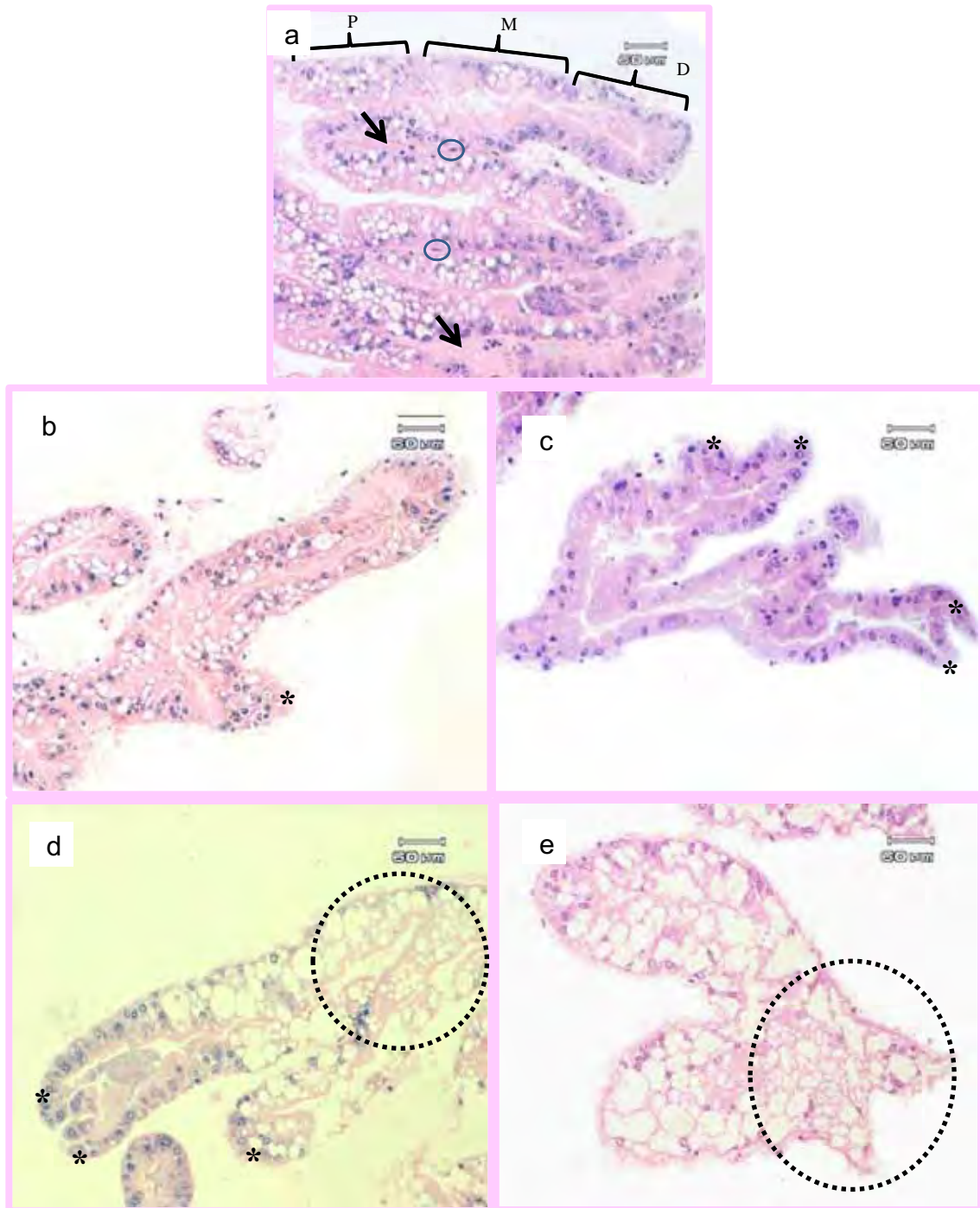
As células F estão localizadas por todo o túbulo nos momentos quando o IHS é baixo e o hepatopâncreas não apresenta bolo alimentar, ou está no início da chegada do alimento na luz do túbulo hepatopancreático. Nesta fase da digestão essas células são cilíndricas e contêm apenas um vacúolo subapical

(Fig. 6 e 7). Durante o processo digestivo, quando o alimento está disperso no lúmen tubular, observa-se raramente esta célula. Nesses momentos a célula F se apresenta com várias vesículas apicais, pode tanto apresentar base triangular e o ápice arredondado, ou extremamente cilíndrica (Fig. 4 b e d; 5d).

No início da digestão na luz dos túbulos hepatopancreáticos, as células B apresentam várias vesículas pinocíticas e um vacúolo subapical (Fig. 4 a e b; 5c). Em uma fase posterior da digestão, estas células apresentam um único vacúolo supranucleolar (Fig. 4 e 5). Em ambas as situações, o núcleo apresenta-se achatado e normalmente está localizado basal ou lateralmente na célula (Fig. 4). O núcleo se apresenta mais achatado, quanto maior a área ocupada pelos vacúolos dispostos no citoplasma. Quando não há alimento no hepatopâncreas para ser digerido, as células B são raras, e se apresentam somente na região proximal do túbulo (Figs. 6 a e e). Nos momentos quando se inicia a digestão intracelular, as células B estão distribuídas por todo o túbulo (Fig. 4 e 5).

As células R variam em forma e frequência de acordo com a fase do ciclo digestivo. Nas fases de baixo IHS essas células são numerosas e apresentam forma poliédrica ou cilíndrica/arredondada (Fig. 6 e 7). Já nos momentos de alto IHS apenas é possível a observação de poucas células R com forma poliédrica (Fig. 5d). Em qualquer dos momentos analisados anteriormente, as células R apresentam núcleo grande, central ou basal. Em todas as fases do ciclo essas células podem ser encontradas por toda a extensão do túbulo, e apresentam citoplasma basófilo, com numerosos grânulos acidófilos (Fig. 4 a 7).

**Figura 10**



**Figura 10.** Organização geral dos túbulos hepatopâncreáticos. As setas indicam tecido conjuntivo entre os túbulos; círculos contínuos indicam células mioepiteliais; círculos pontilhados indicam porções proximais dos túbulos fundidas; colchetes seguidos de letras indicam região proximal P, região média M, região distal D; asteriscos indicam brotamentos dos túbulos.

*Discussão*

## 6 – DISCUSSÃO

### 6.1 - *Análise do IHS e do IGaS durante os Ciclos Digestivos*

A análise do IHS e do IGaS mostrou uma íntima relação entre estômago e hepatopâncreas durante os ciclos digestivos. Após 1h de PA o peso destes órgãos se apresenta relativamente alto em relação ao corpo. Neste momento, imediatamente após receber alimento, o estômago processa este material e envia para digestão no hepatopâncreas. Nas 18 horas seguintes o hepatopâncreas processa gradativamente o alimento, e retorna os restos não digeridos ao estômago, quando observa-se uma queda no IHS, e uma elevação no IGaS às 19h de PA.

Neste experimento com indivíduos juvenis, o primeiro ciclo hepatopancreático teve duração total de 19 horas, embora estudos com adultos da mesma espécie mostrem um primeiro ciclo extremamente abreviado de 2 horas (FRANCESCHINI-VICENTINI, 2011). Essa diferença abrupta de tempo pode estar relacionada com a idade dos animais. Dentre todos os 5 ciclos observados em juvenis, o primeiro foi o que apresentou maior tempo de processamento após o acúmulo de alimento no hepatopâncreas (elevado IHS), com duração de 18 horas. Provavelmente este fato deve estar relacionado com o período de inanição anterior à alimentação do início do experimento.

Durante as 18 horas de processamento deste primeiro ciclo, nota-se que a queda do IGaS, ou esvaziamento do estômago ocorre abruptamente durante 14 horas. Nas últimas 4 horas deste ciclo o IGaS volta a aumentar, porém não atinge o índice anterior, porque o animal não recebeu nova alimentação. A elevação do IGaS neste momento é o reflexo do retorno apenas do alimento não digerido do hepatopâncreas ao estômago. Embora não haja estudos que relacionam o peso relativo do hepatopâncreas juntamente ao estômago no processo digestivo, a

demanda de material do hepatopâncreas ao estômago foi descrita para outros decápodos (SHAEFER, 1970; POWEL, 1974; LOVETT & FELDER 1990). O hepatopâncreas por sua vez, deve ter aumentado o tempo de digestão devido à aparente inanição instalada (3 dias de inanição) antes da primeira alimentação do experimento.

Outro aspecto que deve ser considerado é que a média do IHS do tempo 0h é semelhante à média do IHS no tempo 67h PA. Além disso as características estruturais do hepatopâncreas são semelhantes nos dois tempos de PA anteriormente citados. Com isso provavelmente o tempo 0 significou um momento de elevação do IHS de um ciclo digestivo do período de inanição. A alimentação fornecida no tempo zero provocou um aumento imediato do IHS e, conseqüentemente, o primeiro ciclo digestivo do experimento foi um reflexo do período anterior de inanição.

Nos três ciclos digestivos seguintes observados, há elevados e baixos valores de IHS e IGaS em momentos alternados nas curvas correspondentes. Isto mostra provavelmente que, quando o alimento sai do hepatopâncreas, retorna ao estômago, e vice-versa. Vale lembrar que o único tempo de PA estatisticamente com diferença significativa na curva de IGaS é o de 1h de PA. Isso acontece pois é apenas neste momento que ocorre o aporte real de alimento ao estômago, sendo que os outros valores correspondem ao retorno de material não digerido do hepatopâncreas.

A partir do 4º ciclo digestivo observado, nota-se que o IGaS praticamente não se altera. Isso indica que o estômago aparentemente não recebe alimento do hepatopâncreas. O IHS mostra ainda um 5º ciclo digestivo. Neste momento, o aumento do peso do hepatopâncreas deve estar relacionado ao aporte sanguíneo e reserva energética acumulada, devido à falta de alimentação.

A fase de pós-alimentação de 103 a 121h de PA mostra constância no tamanho do hepatopâncreas. Assim, neste momento o animal está

aparentemente sem reserva energética, o que é confirmado pela análise morfológica, ou seja, raras células B características.

## 6.2 - Características do epitélio digestivo durante os ciclos digestivos

Análises dos IHS em diferentes tempos de PA revelou a presença de 5 ciclos digestivos após uma única oferta de alimento para o animal. O bolo alimentar é reprocessado várias vezes pelo hepatopâncreas, uma vez que não há nova oferta de alimento. Esse reprocessamento do alimento foi descrito por Franceschini-Vicentini (2011) em animais adultos da mesma espécie. Assim, o bolo alimentar sai do hepatopâncreas, se aloja no estômago, e retorna para um novo ciclo. Essa hipótese ganha força quando observamos que somente no primeiro dia de PA apareceram fezes nos aquários, provavelmente provenientes da alimentação anterior, ocorrida 72 horas antes.

A análise histológica foi feita nos tempos com IHS mais elevados e mais baixos. Em todos os tempos de PA que mostraram IHS semelhantes, também foram semelhantes as estruturas histológicas, corroborando a proposta de que ocorrem vários ciclos sucessivos, após uma única alimentação.

Assim, nos tempos de elevado IHS, pode-se observar grande quantidade de células B, como descrito por Franceschini-Vicentini (2011) em indivíduos adultos de *M. amazonicum* para elevados IHS. Outra característica é a baixa quantidade de células R e F, limitadas à região distal dos túbulos e redução do lúmen tubular. Todas essas características são condizentes com grande aporte de alimento no hepatopâncreas e digestão intracelular (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b). Interessante notar que as células R, com papel de reserva (AL-MOHANNA & NOTT, 1987a), são poucas neste momento. Al-Mohanna e Nott (1989) demonstram que essas células estocam reservas para necessidades posteriores. Provavelmente estas células tenham se comportado desta maneira



neste experimento porque o animal já vinha de um período de restrição alimentar. Assim, quando ocorre digestão intracelular, é o momento adequado para se transferir energia diretamente à hemolinfa, tornando as células R mais escassas.

Ainda que todos os túbulos de espécimes com a característica de elevados IHS apresentem intensa vacuolização nas células B, alguns tempos de analisados apresentaram células com inúmeros e pequenos vacúolos semelhantes ao descrito em células B iniciais de *Penaeus semisulcatus*. (AL-MOHANNA et al., 1985a; AL-MOHANNA & NOTT, 1986b). Ainda, outros tempos apresentaram células B com grandes vacúolos únicos que dificultaram a visualização das células R e F. Nota-se ainda que nos túbulos onde as células B apresentam muitos vacúolos, as células R e F se apresentam em maior número. Já nos túbulos onde a maioria das células B apresentam um único e grande vacúolo, as células R e F são raras. Provavelmente a participação das células R e F no processo digestivo esteja associado à fase de digestão intra celular nas células B, como demonstrado para células F em *Penaeus semisulcatus* (AL-MOHANNA & NOTT, 1985a). No momento em que as células B apresentam um único vacúolo, o processo da digestão intracelular está na fase final e será seguida pelo descarte das células B (AL-MOHANNA & NOTT, 1989). Nesta fase as células B são muito grandes e ocupam quase todo o epitélio, sendo rara a observação de células R e F.

Os tempos de PA com baixos IHS analisados em juvenis de *M. amazonicum*, mostraram características de um epitélio recém reorganizado, com raras células B e inúmeras células F. As células R observadas provavelmente estocam reservas de energia do ciclo digestivo anterior, e o grande número de células F indica a produção de enzimas digestivas para digestão extracelular (VOGT, 1985; 1992). Em *Astacus astacus* (VOGT et al., 1989) e em *Penaeus semisulcatus* (AL-MOHANNA & NOTT, 1987a) foi demonstrado predomínio de células R no túbulo, enquanto que em outras espécies houve o predomínio de células F (COLLINS, 2010), assim como em adultos de *M. amazonicum* (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009) à semelhança do encontrado para

juvenis no presente estudo. O predomínio de células F em relação às células R provavelmente se deva ao fato de que estes animais, antes da alimentação para análise deste estudo, já haviam ficado 3 dias sem se alimentar, diminuindo as reservas energéticas e a quantidade de células R. Nos tempos de baixo IHS também houveram raras células B, com um único vacúolo supranuclear. É provável que estas células sejam as remanescentes do ciclo anterior, que estejam se preparando para se extrusarem (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b), assim como já observado em adultos de *M. amazonicum* (FRANCESCHINI-VICENTINI, 2011). As células E foram encontradas na região distal dos túbulos, como para outras espécies de camarões (AL-MOHANNA et al., 1985a).

No último dia do experimento, após 103h de PA, não houve demarcação de ciclo digestivo, embora tenha havido constância no IHS, indicando não haver mais movimentação de material entre hepatopâncreas e estômago. Neste período as características histológicas foram condizentes com células encontradas em baixos IHS, de ciclos digestivos anteriores. No entanto, em algumas regiões dos túbulos, pode-se notar que o epitélio pseudoestratificado colunar passou a ser cúbico. Provavelmente as células do epitélio não estão recebendo estímulo para desempenharem suas funções, o que reflete na forma da célula.

### 6.3 - Características das células durante os ciclos

Nos túbulos hepatopancreáticos 4 tipos celulares, presentes classicamente (JACOBS, 1928; HIRSH & JACOBS, 1928), foram encontrados: células embrionárias E, células fibrilares F, células vesiculares B e células reabsortivas R. Embora tenha sido descrito a presença de células basais M para indivíduos adultos da espécie (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009), este tipo celular foi de rara visualização no hepatopâncreas de juvenis.

As células E se localizam na região distal dos túbulos e é responsável pela reposição de células em cada ciclo digestivo (AL-MOHANNA, 1985a; ICELY & NOTT, 1992; VOGT, 1994). Neste estudo pode-se observar que estas células são

menos numerosas nos momentos de elevado IHS de acordo com o encontrado por Franceschini-Vicentini (2011), e mais numerosas em momentos de baixo IHS. Esta aparente variação no número de células E deve estar relacionada com a reposição de células nos momentos de baixo IHS, preparando o órgão para mais um ciclo de digestão.

As células E também devem estar relacionadas ao crescimento do hepatopâncreas nos indivíduos juvenis de *M. amazonicum*. Algumas vezes as porções distais de alguns túbulos hepatopancreáticos são ramificadas e revestidas por epitélio com características funcionais. Além da ramificação distal também é possível observar “brotamentos” nas regiões médias dos túbulos. Esses “brotamentos” originam outros túbulos de variados tamanhos, que também se apresentam funcionais, com lúmen contínuo ao túbulo de origem. É possível que tais padrões morfológicos estejam retratando a organogênese tardia do hepatopâncreas, uma vez que este estudo trabalhou com indivíduos juvenis. Estes padrões sugerem que a ramificação dos túbulos, e conseqüentemente o crescimento do hepatopâncreas, seja através de uma célula indiferenciada E que origina o início de novos túbulos.

As células F são responsáveis pela produção de enzimas digestivas para digestão extracelular (VOGT, 1994). Levando em conta que a digestão extracelular acontece em algumas fases bem delimitadas do ciclo, essas células mudam sua forma e sua função de acordo com essas fases (AL-MOHANNA et al., 1985a). Enquanto a digestão extracelular ocorre no lúmen do hepatopâncreas, estas células se mostram cilíndricas, com núcleo basal e com um vacúolo subapical. Alguns estudos (AL-MOHANNA, 1985<sup>a</sup> et al.; FRANCESCHINI-VICENTINI, 2011) mostram que estas células ganham formato triangular logo após a alimentação, com vários grânulos em seu ápice, que serão destinados ao lúmen. Células com essas características foram raramente encontradas neste estudo. Provavelmente, estas poucas células visualizadas, são representantes tardias de um processo que ocorreu por toda a extensão do túbulo, em momentos anteriores.

Neste trabalho, as células F mostraram-se fortemente acidófilas. Essa característica não é comum nestas células, pois sendo células produtoras de proteínas, apresentam caráter ácido, sendo normalmente basófilas (BANCROFT & GAMBLE, 2007). Acreditamos que esta característica ocorra devido à fase do ciclo. Nos momentos de baixo índice, há aporte enzimático destas células ao estômago. Assim sendo, desmancha-se o aparato produtor de enzimas, isto é, retículo endoplasmático rugoso e aparelho de golgi, tais características pós extrusão enzimática foram descritas por Al-Mohanna et al. (1985a) e por Vogt (1994). Assim, estas estruturas que caracterizavam a célula como ácida já não existem mais, e a célula passa a ser básica, se tornando acidófila, e corando-se fortemente com eosina. Ademais, o número de células F nos tempos de baixo índice é totalmente compatível com o número de células B, que vão se originar a partir das células F, nos elevados IHS. A origem das células B a partir das células F também foi proposta para outras espécies de camarões (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b; BRUNET et al., 1994).

Ocorrida a digestão extracelular, e toda a produção de enzimas necessárias no lúmen tubular, a célula F se diferencia em célula B (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b; BRUNET et al., 1994). Esta célula tem a função de digerir intracelularmente materiais que não foram digeridos no lúmen. Desta maneira, a forma da célula pode variar, desde o surgimento das vesículas pinocíticas até a extrusão, com materiais residuais (AL-MOHANNA & NOTT, 1986b). Neste estudo pode-se observar que as células B iniciais apresentam várias vesículas associadas a um vacúolo. Conforme o ciclo progride para as fases finais, essas vesículas se coalescem e formam um único grande vacúolo apical. Os núcleos destas células são basais ou laterais, e achatados quanto maior o volume ocupado pelas vesículas/vacúolo.

As células R absorvem e armazenam energia em forma de lipídeos e/ou glicogênio (AL-MOHANNA & NOTT 1989; VOGT, 1994). Em juvenis de *M. amazonicum*, essas células mudaram de forma e frequência de acordo com a fase do ciclo. São muito numerosas quando o IHS está baixo, apresentam forma

cilíndrica-arredondada e vacúolo subapical, com grânulos eosinófilos em seu citoplasma. Quando o IHS está alto, são raras, poliédricas/cônicas, com núcleo grande, central ou basal. É provável que estas células mudem sua forma em altos IHS devido a grande quantidade de células B, com seus grandes vacúolos. As células B podem congestionar o epitélio e conseqüentemente estreitar a porção apical dessas células. Quanto as diferenças na frequência, há duas hipóteses: (1) Nos momentos de elevado IHS o material de reserva dessas células é transferido para o corpo do animal, uma vez que não há mais material a ser captado do lúmen para reserva pois a fase é de digestão intracelular nas células B. Assim, ao final deste ciclo, haverá mais material de reserva disponível para as células R desprovidas de reserva; (2) as células R ficam menos perceptíveis devido ao grande espaço ocupado pelas células B.

Diante da discussão apresentada para o estômago e para as principais células envolvidas no ciclo digestivo, nota-se que existe relação entre o esquema de alimentação dos animais, e a resposta do hepatopâncreas à alimentação. O esquema de arraçoamento na aquicultura deve estar sempre baseado nas respostas ocorridas no hepatopâncreas, uma vez que este órgão tem grande participação na digestão para os crustáceos. Porém isto não acontece. É provável que muitos produtores forneçam o alimento de forma equivocada aos animais, o que aumenta o custo da produção e diminui os lucros. Além disso, o fornecimento de alimento em excesso pode comprometer o meio, devido à eutrofização da água. A chave para garantir a sustentabilidade no cultivo de camarões de água doce é a utilização mais eficiente dos recursos naturais, e ao mesmo tempo não comprometer o meio ambiente.

*Conclusões*

## 7- CONCLUSÕES

Este estudo propôs fornecer subsídios para uma discussão de manejo alimentar em *M. amazonicum*. Desta maneira, a avaliação do tempo de duração dos ciclos digestivos é muito importante, bem como o modo em que o alimento é processado pelo trato digestório. Assim, para juvenis de *M. amazonicum*, embora o alimento passe por diversos ciclos após uma única alimentação, demonstrou-se que é no primeiro ciclo que ocorre a maior parte da digestão e absorção do alimento. Ressaltamos ainda que este primeiro ciclo dura cerca de 19h, deixando o trato digestório ocioso por 5h, caso o animal seja alimentado apenas uma vez ao dia. Assim, a oferta de alimento feita duas vezes ao dia, caracteriza-se por grande desperdício de alimento. Recomenda-se, então, que a oferta de alimento seja feita uma vez ao dia, e que sejam empregadas técnicas de manejo que incrementem a produção natural do tanque, como policultivo e adubamento.

## *Referências Bibliográficas*



## 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-MOHANNA, S.Y. and NOTT, J.D. (1986a) **The accumulation of metals in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* De Hann (Crustacea:Decapoda) during the moult cycle.** In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

Al-MOHANNA, S.Y. and NOTT, J.D. (1986b) **B-cells and ingestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea:Decapoda).** *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 66:403-414.

Al-MOHANNA, S.Y. and NOTT, J.D. (1987a) **R-cells and the digestion cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda).** *Marine Biological*, 95:129-137.

Al-MOHANNA, S.Y. and NOTT, J.D. (1987b) **M-“midget” cells and the moult cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda).** *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 67:803-813.

Al-MOHANNA, S.Y. and NOTT, J.D. (1989) **Function cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle.** *Marine Biological*, 101:535-544.

Al-MOHANNA, S.Y.; NOTT, J.A.; LANE, D.J.W. (1985a) **Mitotic E- and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea:Decapoda).** *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 65:901-910.

Al-MOHANNA, S.Y.; NOTT, J.A.; Lane, D.J.W. (1985b) **M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1844 (Crustacea:Natantia).** *Crustaceana* 48:260-268.

ALMEIDA-FUNO, I. C. S. Et al. 2010. **Identificação de tensores ambientais nos ecossistemas aquáticos da área de proteção ambiental (APA) da Baixada Maranhense.** *Revista Brasileira de Agroecologia*, Porto Alegre, 5(1): 74-85.

AMARAL, A. C. Z. & JABLONSKI, S. 2005. **Conservação da biodiversidade marinha e costeira no Brasil.** *Megadiversidade*, 1(1):43-51.

BANCROFT, J. D. & GAMBLE, M. (2007). **Theory and Practice of Histological Techniques, 6e.** Churchill Livingstone. UK. 744p.

BIALETZKI, A.; NAKATANI, K.; BAUMGARTNER, G. & BOND-BUCKUP. **Occurrence of *M. amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palemonidae)** In: Leopoldo's inlet (Ressaco do Leopoldo), upper Paraná river, Porto Rico, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 14, n. 2, p. 379-390, 1997.

BRAGAGNOLI, G.; GROTTA, M. (1995) **Reprodução do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum* do açude Epitácio Pessoa, Boqueirão (PB), Brazil: Parte 1 ciclo sexual.** *Revista Nordestina de Biologia*, v. 10, n. 2, p. 141-154.

BRIDGER, C. J. & GARBER, A. F. (2002) **Aquaculture escapement, implications and mitigation: the salmonid case study.** In: COSTA-PIERCE, B. A. (ed) *Ecological Aquaculture The Evolution of The Blue Revolution*. Oxford:Blackwell Science, 2002. P. 77-102.

BRUNET, M.; ARNAUD, J.; MAZZA, J. (1994) **Gut structure and digestive cellular processes in marine crustacea.** *Oceanography and Marine Biology*, 32:335-367.

CACECI, T.; NECK, K. F.; LEWIS, D. H.; SIS, R. F. (1988). **Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda).** *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 68: 323-337.

CECALDI, H. J. (1998) **A synopsis of the Morphology and Physiology of the Digestive System of Some Crustacean Species Studied in France.** *Reviews in Fisheries Science*. 6: 13-39.

COELHO, P.A.; RAMOS-PORTO, M.; BARRETO, A.V. (1982) **Crescimento em viveiro de cultivo do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) (Decapoda, Palaemonidae).** *Revista Brasileira de Biologia*, v. 1, n. 1, p. 45-53.

CONKLIN, D. E. (1995). **Chapter 16: Digestive Physiology and Nutrition.** pp 441-463. *Biology of lobster Homarus americanus. Academic Press.* 528 pages. Ed. FACTOR, J.R.

COLLINS, P. (2010) **Environmental stress upon hepatopancreatic cells of freshwater prawns (Decapoda: Caridea) from the floodplain of Paraná River.** *Natural Science.* 2(7): 748-759.

CORRÊA Jr., J.D.; FARINA, M.; ALLODI, S. (2002) **Cytoarchitectural features of *Ucides cordatus* (Crustacea Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules.** *Tissue & Cell*, 34(5):315-325

CUTOLO, M.A.; VALENTI, W.C. **Manejo alimentar de pós-larvas do camarão da amazonia *Macrobrachium amazonicum*, em berçário 1.** *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v. 27, n. 1, p. 67-72, 2005.

DA SILVA, R.R.; SAMPAIO, C.M.S.; SANTOS, J.A. (2004) **Fecundity and fertility of *Macrobrachium amazonicum* (Crustácea, Palaemonidae).** *Brazilian Journal of Biology*, v. 64, n. 3, p. 489-500.

DALL, W. (1965) **Studies on the physiology of a shrimp *Metapenaeus* sp. (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). IV. Carbohydrate metabolism.** *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 16: 163-180.

FACTOR, J.R. (1981) **Development and metamorphosis of the digestive system of larval lobsters, *Homarus americanus* (Decapoda:Nephropidae).** *Journal of Morphology*, 169:225-242.

FACTOR, J. R. (1995) **Chapter 15: The digestive system.** pp 395-440. In: *Biology of lobster Homarus americanus. Academic Press.* 528 pages. Ed. FACTOR, J.R.

FACTOR, J.R. and NAAR, M. (1985) **The digestive system of the lobsters, *Homarus americanus*: 1. Connective tissue of the digestive gland.** *Journal of Morphology*, 184:311-321.

FACTOR, J.R. and NAAR, M. (1990) **The digestive system of the lobsters, *Homarus americanus*: 2. Terminal arterioles of the digestive gland.** *Journal of Morphology*, 206:283-291.

FAO. 2012a. **Nueva alianza mundial para promover la acuicultura en la lucha contra el hambre – La Unión Europea lidera una iniciativa de tres años.** Centro de Prensa. Disponível em: <http://www.fao.org/news/story/es/item/161339/icode/>

FAO, 2012b. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO – Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura.** Roma. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s00.htm>

FAO, 2012c. **Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics, 2010.** Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>

FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B 2011. **Ciclo celular do hepatopâncreas do camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum*.** *Tese de livre docência.* Bauru, 2011. 108f.

FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; RIBEIRO, K.; PAPA, L.P.; MARQUES Jr, J. (2009) **Histoarchitectural features of the hepatopancreas of the Amazon river prawn *Macrobrachium amonicum*.** *International Journal of Morphology*, 27(1): 121-128.

FREIRE, J. L. & SILVA, B. B. 2008. **Aspectos sócio-ambientais das pescarias de camarões dulcícolas (*Macrobrachium amazonicum* HELLER, 1862 e *Macrobrachium rosenbergii* DE MAN, 1879) (DECAPODA, PALAEMONIDAE) na região Bragantina – Pará – Brasil.** *Boletim do laboratório de hidrobiologia*, 21: 51-62.

GIBSON, R. & BARKER, P. L. 1979. **The decapod hepatopancreas.** *Oceanogr Mar Biol Ann Rev*, v. 17, p. 285-346.

GURGEL, J. J. S.; MATOS, M. O. M. **Sobre a criação extensiva do camarão-canela *M. amazonicum* (HELLER, 1862) nos açudes públicos do Nordeste brasileiro.** In: 3º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Associação Brasileira de Aqüicultura, 1984. P.295-311.

HIRSCH, G.C. & JACOBS, W. (1928) **Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. I. Teil: Methodik und Technik.** In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

HOLTHUIS, L. B. 1952. **A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the America. II. The subfamily palaemonidae.** *Allan Hancock Foundation*, v. 12, p 1-396.

HOPKIN S.P. & NOTT J.A. (1979) **Some observations on concentrically, intracellular granules in the hepatopancreas of the shore crab *Carcinus maenas* (L.).** In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

HOPKIN, S.P. & NOTT, J.A. (1980) **Studies of the digestive cycle of the crab *Carcinus maenas* (L.) with special reference to the B cells in the hepatopancreas.** In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

ICELY, J. D. & NOTT, J. A. 1992. **Chapter 6: Digestions and Absorptions: digestive system and associated organs.** *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, Volume 10: Decpod crustacean. *Wiley-Liss*. p.147-201.

JACOBS, W. (1928) **Untersuchungen über die Cytologie der Seretbildung in der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*.** In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

LOBÃO, V.L.; ROJAS, N.E.T.; BARROS, H.F.; LACE, M.; HORIKAWA, M.T.; LULA, L.M. **Determinação de densidade adequada para larvicultura de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)** (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 14, n. 1, p. 45-49, 1987.

LOBÃO, V.L.; ROVERSO, E.A.; LOMBARDI, J.V. **Influência da densidade inicial de estocagem no desenvolvimento de *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) e *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)** (Decapoda, Palaemonidae) em laboratório. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 21, p. 11-17, 1994.

LOBÃO, V.L.; ROVERSO, E.A.; LOMBARDI, J.V. **Ciclo de muda e crescimento em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)** e (Decapoda, Palaemonidae). *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 23, p. 31-45, 1996.

LOVETT, D.L. & FELDER, D.L. (1989) **Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus*** (Decapoda, Penaeidae). *Journal of Morphology*, 201:253-272.

MACIEL, C. R. & VALENTI, W. C. 2009. **Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review**. *Nauplius*. 17(2): 61-79.

MACIEL, C.R. et al. 2012. **The predation of *Artemia Nauplii* by the Larvae of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862), is affected by prey density, time of day, and ontogenetic development**. *Journal of the World Aquaculture Society*. 43(5): 659-669.

MAGALHÃES, C. **Filo Arthropoda, Subfilo Crustacea, Ordem Decápoda**. 1999. In: ISMAEL, D.; VALENTI, W.C.; ROCHA, O.; MATSUMURA-TUNDISI, T. (ed) 1999. *Invertebrados Dulciaquícolas*. São Paulo, FAPESP (volume 4 da coleção "Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: Síntese do conhecimento ao final do século XX", organizada por Joly, C. A. & Bicudo, C. E. M.), 1999. P. 125-134.

MAGALHÃES, C. **Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palaemonídeos da região Amazônica. 1. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)** (Crustacea, Decapoda). *Amazoniana*, v. 9, n. 2, p. 247-274, 1985.

MORAES-RIODADES, P. M. C. & VALENTI, W. C. 2001. **Freshwater prawn farming in Brazilian Amazonia shows potential for economic, social development.** *Global Aquaculture Advocate*, 4(5): 73-74.

MORAES-RIODADES, P. M. C.; VALENTI, W. C.; PERALTA, A. S. & AMORIM, M. D. L. 1999. **Carcinicultura de água doce no estado do Pará: situação atual e perspectivas.** In: 9º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA e 1º CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1999, Recife, **Anais...** Recife, Associação de Engenharia de Pesca e Associação Latino-Americano de Engenharia de Pesca, 1999. p. 598-604.

MYRICK, C. A. Ecological impact of escaped organisms. 2002. In: TOMASO, J. R. **Aquaculture and the Environment in the United States.** Baton Rouge:U.S. Aquaculture Society, 2002. P. 225-246.

NETO, J. M. O. 2006. **Investigação da ocorrência do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) e da infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHNV) em camarões coletados em área sob influência de efluentes da carcinicultura.** *Dissertação de mestrado.* Instituto de Ciências do mar – Universidade Federal do Ceará. 78p.

NEW, M. B. 2010. **History and global status of freshwater prawn farming.** In: **New, M. B. & VALENTI, W. C. (ed.).** *Freshwater Prawn Farming: The Farming of Macrobrachium rosenbergii.* London, *Blackwells.* P. 1-11.

NEW, M. B.; D'ABRAMO, L. R.; VALENTI, W. C.; SINGHOLKA, S. **Sustainability of freshwater prawn culture.** 2000. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C. (ed.) *Freshwater Prawn Farming: The Farming of M. rosenbergii.* Londres: *Blackwells.* 2000. P. 429-443.

ODINETZ-COLLART, O. **Tucuri dam and the populations of the prawn *Macrobrachium amazonicum* in the lower Tocantins (Pa, Brazil): A four year study.** *Archives Hydrobiologie*, v. 122, n. 2, p.213-227, 1991a.

ODINETZ-COLLART, O. **Strategie de reproduction de *Macrobrachium amazonicum* em Amazonie centrali (Decapoda, Caridea, Palaemonidae).** *Crustaceana Leiden*, v. 61, n. 3, p. 253-270, 1991b.

ODINETZ-COLLART, O.; MOREIRA, L. C. **Potencial pesqueiro do camarão *M. amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro).** *Amazoniana*, v. 12, n. 3/4, p. 399-413, 1993.

ODINETZ-COLLART, O.; MAGALHÃES, L. C. **Ecological constraints and life history strategies of palaemonid prawn in Amazonia.** *International V.T.A. Limnologie*, v. 25, n. 4, p. 2460-2467, 1994.

PANTALEÃO, J. A. F. et al. 2012. **Relative growth, morphological sexual maturity, and size of *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in a population with an entirely freshwater life cycle.** *Invertebrate Reproduction & Development*. V. 56(3).

PAPA, L.P.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; RIBEIRO, K.; VICENTINI, C.A.; PEZZATO, L.E. **Diferenciação morfológica de machos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*, a partir da análise do hepatopâncreas e do sistema reprodutor.** *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v. 26, n. 4, p. 463-467, 2004.

PAPA, L.P. (2003) **Determinação dos índices gonadossomático e hepatossomático e análise estrutural dos testículos dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum*.** *Dissertação de mestrado* - Centro de Aqüicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 89p.

POWEL, R. R. (1974). **The functional morphology of the foreguts of the thalassinid crustaceans, *Callinassa californiensis* and *Upogebia pugettensis*.** *Univ. Calif. Publ. Zool.* 102: 1-41.

RIBEIRO, K. (2006) **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal.** *Tese de doutorado*- Centro de Aqüicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.98p.



RIBEIRO, K.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.; PAPA, L. P.; NEW, M.; VALENTI, W. C.(2011) **Effect of Polynsaturated Fatty Acid of the Fecundity of the Amazon River prawn, *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862).** *Aquaculture Research*, v. 44:12, pp. 1756-1763.

RODRIGUES, M. M. (2011) **Efeito da alimentação e densidade de estocagem no desempenho zootécnico e perfil celular do hepatopâncreas do camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1982) (Crustacea, Palaemonidae).** *Dissertação de mestrado*. Centro de Aquicultura da UNESP. 56p.

ROJAS, N.E.T.; LOBÃO, V.L., BARROS, H.P. (1990) **Métodos de manutenção de larvas de *Macrobrachium amazonicum* Heller, 1862 (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae).** *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 17, p. 15-26.

ROVERSO, E.A. et al. (1990) **Arraçoamento intensivo de pós-larvas de *Macrobrachium amazonicum* Heller e *Macrobrachium rosenbergii* de Man, até a fase juvenil.** *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 17, p. 91-98.

SCAICO, M.A. (1992) **Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Crustacea:DEcapoda) de um açude do nordeste brasileiro.** *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 19, p. 89-96.

SCHAEFER, N. (1970). **The functional morphology of the foregut of three species of decapod Crustacea: *Cylograpsus punctatus* Milne Edwards, *Diogenes brevirostris* Stimpson, and *Upogebia Africana* (Ortmann).** *Zool. Afr.* 5: 309-326.

SILVA, M. C. N. et al. 2007. **Estudo do crescimento do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) da ilha de Combú, Belém, estado do Pará.** *Amazônia: Ci. & Desenv.*, Belém, 2(4):85-104.

SPERANDIO, L. Et al. 2012. **Transportation of Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* juveniles in different biomass densities.** *Aquaculture Research*. P. 1-5.

VALENTI, W. C. **Cultivo de Camarões em Água Doce**. São Paulo:Nobel, 1985. 82p.

VALENTI, W. C. 1993. **Freshwater prawn culture in Brazil**. *World Aquaculture*, 24(1):29-34.

VALENTI, W. C. 1996. **Criação de camarões em águas interiores**. São Paulo, FUNEP, 81p

VALENTI, W. C. 1998 **Carcinicultura de água doce no Brasil: mitos, realidade e perspectivas**. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 10º SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CULTIVO DE CAMARÃO, Recife, **Anais...** Recife. ABRAQ, 1998. p. 199-206.

VALENTI, W. C. 2000. **Introdução. Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. *CNPQ/ Ministério da ciência e Tecnologia*. 2000. 399p.

VALENTI, W. C. 2002. **Situação atual, perspectivas e novas tecnologias para produção de camarões de água doce**. In: **Congresso de Aquicultura**. XII Simpósio brasileiro de aquicultura. Campus II da Escola de Agronomia/UFG. Anais. Goiânia, ABRAQ. P. 99-106.

VALENTI, W. C. & MORAES-RIODADES, P. M. C. 2004. **Freshwater prawn farming in Brazil**. *Global Aquaculture Advocate*, Saint Louis, 7 (4), p. 52-53.

VALENTI, W. C.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.; PEZZATO, L. E. 2003. **The potential for *M. amazonicum* culture**. In: WORLD AQUACULTURE 2003 SALVADOR, BRAZIL, "REALIZING THE POTENTIAL: RESPONSABLE AQUACULTURE FOR A SECURE FUTURE", realizado no período de 19 a 23 de maio de 2003, Salvador. Anais.. , 2003. p.804.

VOGT, G. (1985) **Histologie und Cytologie der Mitteldarmrüse von *Penaeus monodon* (Decapoda)**. In: ICELY, J.D. and NOTT, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

VOGT, G (1992) Transformation of the anterior midgut and hepatopancreas cells by Monodon baculovirus (MBV) in *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquaculture*, 107:239-248.

VOGT, G. (1994) Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda). *Zoomorphology*. 114: 83-101.

VOGT, G.; STOCKER, W.; ZWILLING, R. (1989) Biosynthesis of *Astacus* proteases, a digestive enzyme from crayfish. *Histochemistry*, 91:373-381.

YOUNGE, C. M. (1924) Studies on the comparative physiology of digestion. II. The mechanism of feeding, digestion, and assimilation in *Nephorps norvegicus*. *J. Exp. Biol.*1:343-389.

ZIMMERMANN, S. 1991. O estado da arte na nutrição de camarões de água doce. Encontro Sul-brasileiro e Encontro catarinense de aquicultura. Florianópolis. Anais, p. 1-15.

ZIMMERMANN, S. 1998. **Capítulo 12: Manejo de alimentos e alimentação dos camarões.** Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões. Ed: Valenti, W.C. *FAPESP IBAMA*. 383P.