

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Aspectos estruturais do hepatopâncreas do camarão de água doce
Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862)**

Julio Marques Junior
Biólogo

**Jaboticabal
São Paulo - Brasil
2006**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Aspectos estruturais do hepatopâncreas do camarão de água doce
Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862)**

Dissertação apresentada ao
Centro de Aqüicultura da UNESP,
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Aqüicultura.

Aluno: Julio Marques Junior
Orientadora: Prof^a Dr^a Irene Bastos Franceschini Vicentini

**Jaboticabal
São Paulo - Brasil
2006**

Dedico este trabalho

Aos meus pais

Julio e Rosangela

Pelo incentivo e carinho recebidos em
TODOS os momentos de minha vida. E por
serem o motivo de minha Luta!

e a meu irmão **Marco**

Por ser um grande amigo e "1" ótimo
Ouvido em todos os momentos que precisei.

Agradecimentos Especiais

Á Orientadora, Amiga e 2 mãe
Irene Bastos Franceschini Vicentini,
pelo apoio, e por me mostrar o
significado da palavra Orientação!

Á Karina Ribeiro
Por me ensinar o verdadeiro significado
Da palavra AMIZADE.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a todas as minhas proteções, por me darem a força necessária para enfrentar os obstáculos do dia a dia.

Aos membros da Banca examinadora: Prof. Dr. Laura Satiko Okada Nakagui, e Profa. Dra. Máira Aparecida Stefanini pelas preciosas contribuições para melhoras este trabalho.

Á minha orientadora Profa. Dra. Irene Bastos Franceschini-Vicentini, pela confiança e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Prof. Wagner Cotroni Valenti por me proporcionar o estágio no Setor de Carcinicultura. Com quem sempre pude contar e por confiar na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Edvaldo Pezzato, pelo precioso auxílio na formulação das Rações.

Aos amigos que me auxiliaram na montagem e condução do experimento e muito me ensinaram: Valdecir Fernandes de Lima, José Roberto Polachini e Fábio Kiohara. Muito obrigado pela preciosa ajuda.

Aos amigos que me auxiliaram no processamento do material histológico: Luciene P. Papa, Karina Ribeiro, Alessandra Guerra Messias pela brilhante ajuda!

Ao sempre amigo Marco Antônio Marques, pelo imprescindível auxílio na montagem de meus Plates.

Aos Professores do Laboratório de Morfologia de Organismos Aquáticos da UNESP/Campus de Bauru: Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini por ser além de um eterno mestre, um exemplo de dignidade, e a Profa. Dra. Maria Terezinha Siqueira Bombonato, por estar sempre conosco, demonstrando competência e companheirismo.

Aos amigos do Setor de Carcinicultura Bruno, Gustavo, Mariana, Patrícia, Michele, Fábio, Valdecir e Roberto por me receberem e compartilharem um pouco de sua sabedoria.

Aos Funcionários do CAUNESP: Veralice, Fátima, D. Ana e Mauro, pelo convívio prontidão e amizade.

Aos Meus ETERNOS amigos Valdecir e Roberto que foram verdadeiros "professores de campo", MUITO OBRIGADO!

Á minha grande amiga: Luciene P. Papa que me ajudou MUITO para escrever minha dissertação, além de sempre ser uma pessoa com um alto astral contagiante.

Á minha "GRANDE" amiga Karina Ribeiro o que dizer? Minha gratidão será eterna, e minha admiração por sua magnífica pessoa é infinita.

Aos amigos que conheci no CAUNESP: Rachel, Sérgio, Neidson, Auren, Valeska, Michele, Fábio, Laurindo, Eduardo, Tuim, entre tantos outros, por compartilharem Momentos de tensão e descontração!

Á todos os que passaram pelo CAUNESP e que deixaram saudades;

A todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram na conclusão deste Trabalho o meu Muito obrigado!

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Introdução	1
Literatura	5
<i>Hepatopâncreas</i>	7
<i>Seqüência de diferenciação celular</i>	16
<i>Função do Hepatopâncreas</i>	18
<i>Influência da alimentação</i>	19
<i>Influência da inanição</i>	25
<i>Influência da muda</i>	26
Objetivo	28
Material e Métodos	29
Resultados	31
Discussão	35
Conclusão	39
Documentação Fotográfica	40
Referência Bibliográfica	48

Resumo

O hepatopâncreas está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade dentre as espécies de decápodos. O objetivo deste estudo foi descrever a estrutura histológica do hepatopâncreas de *Macrobrachium amazonicum* descrevendo características macroscópicas e microscópicas, tais como os tipos celulares que o compõe e a organização de seus túbulos secretores. Adultos de ambos os sexos de *M. amazonicum* foram coletados, e o hepatopâncreas foi estudado usando-se técnicas histológicas. O hepatopâncreas é um órgão de coloração amarelo-acastanhada, organizado em dois lobos laterais. A estrutura é formada por uma massa de túbulos de fundo cego com espaço intertubular escasso. Cada túbulo secretor consiste de um epitélio circundado por lâmina basal e células mioepiteliais. Cinco tipos celulares foram observados: célula E (indiferenciada), célula F (fibrilar), célula R (reabsortiva), célula B (vesicular) e célula M (basal). As células E foram observadas na porção distal dos túbulos e são responsáveis pela reposição mitótica das células do epitélio. As células F foram observadas principalmente próximas às células E na região distal. Células R foram observadas ao longo de todo o túbulo secretor, principalmente nas regiões proximal e medial. As células B são abundantes nas regiões medial e distal do túbulo, diminuindo sua frequência na região proximal. Foram observadas células M ao longo de todo o túbulo secretor, associadas às células R.

Abstract

The aim of this study is to describe the histological structure of the hepatopancreas of *Macrobrachium amazonicum*, describing macroscopic and microscopic characteristics: cellular types and the organizations of the secretory tubules. Adults of both sexes of *M. amazonicum* were collected and the hepatopancreas was studied by using histological techniques. The hepatopancreas is a bilaterally bilobed brown-yellowish organ. The structure is formed by a mass of blind tubules, with scarce intertubular space. Each tubule consist of a cylindrical epithelial layers surrounded by a basal lamina and myoepithelial cells. Five cellular types were recognized: E-cells (embryonic), F-cells (fibrilar), B-cells (blisterlike), R-cells (resorptive) and M-cells (midget). E-cells were observed in the distal end of the secretory tubules and are the mitotic cells that replenish the cells of the epithelium. The F-cells were observed along all the tubule, mainly in the distal region next the E-cells. R-cells were observed in the proximal and medial regions. The B-cells were abundant in the medial and distal regions of the tubule. M-cells were observed along all the tubule associated to the R-cells.

INTRODUÇÃO

A carcinicultura de água doce é reconhecida como uma forma para a produção de crustáceos com baixo impacto ambiental (New *et al.*, 2000), sendo este um dos setores que mais cresce no mundo (Valenti, 2002). Os dados da FAO (2002) indicam que o volume de *Macrobrachium rosenbergii* cultivado aumentou de 21.000 para 118.500 toneladas no período de 1990 a 2000. A produção de *M. nipponense* alcançou 100.000 toneladas na China em 2000 (Miao & Ge, 2002). Estes dados indicam que o setor cresceu mais de 1000% na última década do milênio (Valenti, 2002). Em 2001, a produção mundial de camarões de água doce ultrapassou 300.000 toneladas, movimentando mais de US\$ 1 bilhão (Valenti, 2002). Já em 2002, somente a produção mundial de *M. rosenbergii* foi estimada em 195.000 toneladas e movimentou aproximadamente US\$ 617 milhões (FAO, 2004).

Embora o setor produtivo de camarões de água doce ainda ocupe posição inferior ao de marinhos, apresenta várias vantagens tais como: maior resistência a doenças, maturação e larvicultura mais simples, independência da água salgada na fase de crescimento (engorda), sistema de produção compatível com pequenas propriedades e menor impacto ambiental (New, 1995; Valenti, 1996; New, 2000). Além disso, tem características que favorecem o cultivo sustentável em empresas que usam mão de obra familiar (Valenti, 1998; New *et al.*, 2000).

Até o presente, *M. rosenbergii* é a única espécie cultivada no Brasil em escala comercial. O cultivo é realizado em pequenas propriedades, distribuídas em 16 estados brasileiros, tendo o Espírito Santo como o principal produtor, detendo 1/3 de toda a produção (Moraes-Riodades, 2004). Atualmente, essa produção encontra-se estabilizada em 400 toneladas anuais (Valenti, 2004).

Como a carcinicultura de água doce no Brasil está embasada em uma única espécie exótica, *M. rosenbergii*, ela corre riscos, pois o surgimento de problemas com a mesma pode causar colapso na atividade produtiva. Além disso, *M. rosenbergii* é uma espécie de origem asiática e não há estudos referentes ao impacto de sua liberação em ambientes naturais brasileiros. O escape de espécies exóticas cultivadas tem sido responsável 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).

O grande desenvolvimento da produção de *M. nipponense* na China mostra a importância e a viabilidade do uso das espécies nativas para o cultivo. Ocorrem naturalmente no Brasil três espécies de camarões de água doce com grande potencial para cultivo: *M. acanthurus*, *M. amazonicum* e *M. carcinus* (Valenti, 1993). Embora alguns aspectos da biologia dessas espécies já tenham sido estudados, faltam pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de tecnologia de produção.

Dentre as espécies nativas, a *M. amazonicum* merece destaque, sendo conhecida como camarão regional no estado do Pará (Moraes-Riodades *et al.*, 1999), camarão canela e camarão sossego (Valenti, 1985) e, atualmente, é chamado de camarão-da-amazônia. Apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a Venezuela até o estado do Paraná. Habitam as bacias Amazônica, do Orenoco, do São Francisco, do Paraná, rios do Nordeste e do Centro-Oeste (Holthuis, 1952; Davant, 1963; Bialetzki *et al.*, 1997). Supõe-se que tenha sido introduzido em algumas dessas regiões, estando totalmente adaptado (Gurgel & Matos, 1984; Magalhães, 1999). O *M. amazonicum* é largamente explorado pela pesca artesanal na região Nordeste (Gurgel & Matos, 1984) e nos estados do Pará e Amapá (Odinetz-Collart, 1987; Odinetz-Collart & Moreira, 1993). Alguns testes de larvicultura e engorda dessa espécie foram realizados nos estados do Pará em 1996 (Moraes-Riodades *et al.*, 1999), mas não tiveram continuidade devido à falta de tecnologia adequada.

O *M. amazonicum* apresenta grande potencial para aquicultura. É um camarão pequeno, que pode alcançar até 16 cm e 30 g (Valenti *et al.*, 2003), sua carne apresenta textura mais firme e sabor mais acentuado em relação ao *M. rosenbergii* e, por isso, é mais bem aceita no mercado (Moraes-Riodades *et al.*, 1999). É amplamente consumido pelas populações de baixa, média e alta renda na região amazônica (Moraes-Riodades & Valenti, 2001) e população rural da região Nordeste (Gurgel & Matos, 1984). Ocorre em quase todo o território nacional e, portanto, seu cultivo, não oferece riscos ambientais

decorrentes da introdução de espécies exóticas na natureza por escape de viveiros de aqüicultura.

Em 2000, um programa multiinstitucional e multidisciplinar foi iniciado, sob a liderança do Centro de Aqüicultura da UNESP – CAUNESP, visando desenvolver tecnologia de produção sustentável de *M. amazonicum* (Valenti *et al.*, 2003; Valenti, 2004). Este projeto insere-se nesse programa, com o objetivo de caracterizar a estrutura morfológica do intestino médio, em especial do hepatopâncreas uma vez que este órgão apresenta importante papel durante todo o ciclo de vida do animal.

LITERATURA

A principal função do sistema digestório dos decápodos é promover o processo digestivo do alimento ingerido. Cada ciclo digestivo envolve processos de digestão extra e intracelular, absorção e estocagem de nutrientes e a excreção e defecação de produtos residuais da digestão. O tubo digestivo em decápodos apresenta uma estrutura complexa com variações inter-específicas (Icely & Nott, 1992).

O sistema digestório de decápodos caracteriza-se por um tubo interno com aberturas anterior (boca) e posterior (ânus). Este sistema consiste de intestino anterior, intestino médio e intestino posterior. O intestino anterior e posterior são de origem ectodérmica e estão revestidos internamente por cutícula. Já o intestino médio é derivado do endoderma e está revestido por epitélio simples sem a presença de cutícula (Icely & Nott, 1992).

O intestino anterior normalmente ocupa a metade anterior do cefalotórax e está dividido em esôfago, e estômago, sendo este subdividido em região cárdica e região pilórica. O intestino médio está geralmente unido à região posterior da porção pilórica do estômago e se estende como um tubo intestinal, a partir da metade posterior do cefalotórax até o intestino posterior no abdome (Icely & Nott, 1992).

Em todos os decápodos, o intestino médio apresenta uma dilatação denominada de hepatopâncreas. Este órgão normalmente liga-se à porção ventral da região pilórica do estômago e ocupa a maior parte da cavidade cefalotorácica, e se estende até o abdômen em algumas espécies (Icely & Nott, 1992). Em muitos decápodos o intestino médio é dilatado nas extremidades anterior e posterior. Anteriormente observa-se um par de cecos tubulares adjacentes às laterais do intestino anterior, ou ainda um ceco lobular dorsal ao intestino anterior. Posteriormente observa-se um ceco tubular de comprimento e orientação variáveis. Alguns decápodos podem apresentar vestígios ou nenhum destes cecos no intestino médio. O intestino posterior normalmente se localiza apenas na região final do abdômen (Icely & Nott, 1992).

Como o intestino anterior e o intestino posterior estão revestidos por epitélio e cutícula, os processos digestivos, secreção de enzimas e absorção de nutrientes ocorrem no intestino médio (Brunet *et al.*, 1994). Assim o intestino médio é responsável por algumas fases do ciclo digestivo tais como: completar a quebra de produtos digestíveis oriundos do intestino anterior; produzir enzimas digestivas, assim como, provê-las ao intestino anterior; absorver e processar produtos de digestão tanto por transporte para a hemolinfa como por estocagem no intestino médio; e remover material residual. O intestino médio ainda está envolvido em outros processos tais como: manutenção do balanço iônico; vitelogênese; desempenha papel imunológico à medida que remove corpos estranhos do sistema hemolinfático; excreção de produtos residuais do sistema hemolinfático; e detoxificação de metais e substâncias estranhas

(Icely & Nott, 1992). O hepatopâncreas ou glândula do intestino médio dos crustáceos decápodas é o órgão onde ocorre a maioria das funções digestivas (Gibson & Barker, 1979; Dall & Moriarty, 1983).

- ***Hepatopâncreas***

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 & Barker, 1979). Este órgão na maioria dos crustáceos, está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade estrutural dentre as espécies estudadas. Dentre os 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 & Barker, 1979).

Esta glândula consiste de duas metades que se dispõem uma de cada lado da linha média do animal. Cada metade apresenta três lobos que são conectados separadamente ao estômago e intestino médio por um ducto primário que se divide em ductos secundários em cada lóbulo. Os ductos secundários se ramificam amplamente em dúctulos, sendo que cada um termina em um complexo de túbulos em fundo cego (Factor, 1981). O hepatopâncreas é morfológicamente similar na maioria dos decápodas (Gibson & Barker, 1979), apesar do número de lobos poder variar nas diferentes

espécies (Icely & Nott, 1992). *Penaeus* ssp (Vogt, 1985; Lovett & Felder, 1989) e *Caridina laevis* (Pillai, 1960) apresentam apenas um lobo em cada metade do hepatopâncreas. Entretanto o hepatopâncreas do *Astacus astacus* não é um órgão compacto como nos demais decápodos. Este órgão está dividido em duas metades, que não se conectam (Vogt *et al.*, 1989).

Os túbulos digestivos estão imersos e suportados por tecido conjuntivo constituído de fibras colágenas bem definidas, e apresenta variedade de estruturas características que incluem sinusóides hemolinfáticos, células circulantes da hemolinfa e fibroblastos (Factor & Naar, 1985; 1990). Células contráteis contendo feixes de miofilamentos ocupam o espaço entre a membrana basal e a lâmina própria do túbulo hepatopancreático. Essas células apresentam processos que se dispõem circular e longitudinalmente ao túbulo formando uma malha de tecido contráctil ao redor da lâmina basal do mesmo (Factor & Naar, 1985; Icely & Nott, 1992).

Os túbulos hepatopancreáticos em fundo cego podem estar 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). 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 Hirsch & Jacobs (1928).

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 restritas à região distal em fundo cego. Já as células R ocorrem ao longo de todo o comprimento do tubo, as células F principalmente na região distal e as células B se localizam na região proximal do túbulo hepatopancreático. Apenas as células R revestem os ductos e os ductos secundários do hepatopâncreas (Icely & Nott, 1992). Em alguns decápodos foi identificado um quinto tipo celular denominado de células M (basal) (Al-Mohanna et al., 1985b). Este tipo celular está disperso em todo o comprimento do túbulo e se apoia na membrana basal do epitélio, porém não mantém contato com o lúmen do hepatopâncreas (Icely & Nott, 1992).

As células E são indiferenciadas e apresentam núcleo grande que ocupa a maior parte do volume citoplasmático (Al-Mohanna et al., 1985b; Icely & Nott, 1992). O citoplasma apresenta pouco retículo endoplasmático rugoso e liso, mitocôndrias, vesículas limitadas por membranas e muito complexo de Golgi (Icely & Nott, 1992). Esse tipo celular é responsável pela renovação celular do epitélio dos túbulos hepatopancreáticos (Icely & Nott, 1992). Durante os estágios de pós-muda, o núcleo é proeminente e não apresenta sinais de divisão mitótica. Porém no estágio de intermuda estas células apresentam alta atividade mitótica após a alimentação (Al-Mohanna et al., 1985a). Durante

estágios iniciais da pré-muda, as células E apresentam mitose sendo esta a principal característica dessas células nesse período. A atividade mitótica diminui progressivamente e cessa antes da ecdise (Al-Mohanna & Nott, 1989). 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 apresentam núcleo localizado próximo à região basal do citoplasma que possui retículo endoplasmático rugoso extenso com numerosos ribossomos tanto aderidos à membrana quanto dispersos, e numerosas mitocôndrias distribuídas por toda a célula. Os complexos de Golgi são freqüentes e geralmente apresentam cisternas dilatadas (Icely & Nott, 1992; Vogt, 1992). A parte luminal dessas células apresenta microvilos que estão revestidos por uma camada entérica. Estas células são especializadas em sintetizar e secretar enzimas digestivas durante o ciclo alimentar (Icely & Nott, 1992). 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 (Al-Mohanna et al., 1985a). 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 (Al-Mohanna et al., 1985a).

As células F apresentam ainda um grande vacúolo supranuclear, podendo formar um reservatório de atividade digestiva latente antes da alimentação (Al-Mohanna et al., 1985a). Quando se inicia o estágio de intermuda, a frequência das células F é marcadamente reduzida, particularmente nas regiões média e proximal dos túbulos hepatopancreáticos. Isso ocorre devido à diferenciação das células F em B (Al-Mohanna & Nott, 1989). A frequência das células F permanece reduzida ao longo do período de intermuda e presumivelmente continuarão a se diferenciar em células B. Além disso, no início do estágio de pré-muda essas células apresentam frequência mínima dentre as células epiteliais e estão restritas à região imediatamente proximal à zona de divisão celular (Al-Mohanna & Nott, 1989).

As células B 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 & Nott, 1992). Logo após a alimentação, a porção apical da membrana das células B desenvolve invaginações que se estendem como canais para dentro das células, produzindo as vesículas pinocíticas. Próximo a este complexo pinocitótico está localizado um sistema de vacúolos subapicais que apresentam material granular. Esses vacúolos coalescem com os corpos digestivos, sendo que estes ocupam quase todo o volume celular. Com o progresso da pinocitose a camada entérica sobre os microvilos torna-se menos

conspícua e 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 (Al-Mohanna & Nott, 1986b).

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 se moverem basalmente. Eventualmente há um único vacúolo grande contendo esferas densas (Al-Mohanna & Nott, 1986b).

Após a digestão celular, as células B iniciam a fase de extrusão. Nessa fase as microvilosidades são reduzidas em número e o citoplasma apical está muito reduzido. 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. 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. Esse complexo apresenta cisternas achatadas e produz vesículas elétron-densa, as quais coalescem em corpos multivesiculares e são acumuladas em vacúolos supranucleares (Icely & Nott, 1992).

As células R 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, como também pequenas partículas da hemolinfa. Esses metabólitos e partículas são estocados como lipídio e glicogênio no citoplasma (Al-Mohanna & Nott, 1987a).

As células M são conhecidas pela acumulação contínua de material orgânico denso, o qual ocupa todo o volume celular. Os precursores da síntese desse material orgânico 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. Desta forma não há evidências de atividade pinocítica na membrana celular e o transporte deve ocorrer por difusão (Al-Mohanna et al., 1985b). Essas células, ainda, não apresentam borda em microvilos (Al-Mohanna & Nott, 1987b).

As células M também são responsáveis pelo material de origem protéica estocado no hepatopâncreas (Al-Mohanna et al., 1985b). Essas células sofrem mudanças na frequência e na estrutura, durante o ciclo de muda do animal (Al-Mohanna & Nott, 1987a). Cada célula acumula material de origem protéica dentro de um vacúolo maciço, durante o período de intermuda, sendo esse material utilizado durante o período de pré e pós-muda (Al-Mohanna & Nott, 1989). Esse corpo denso acumulado não é derivado de um sistema de digestão intracelular, uma vez que não há evidências de material membranoso ou particulado remanescente de um processo digestivo (Al-Mohanna et al., 1985b).

As células M tendem a ser arredondadas, permanecendo em contato com a lâmina basal e, ocasionalmente, podem produzir extensões citoplasmáticas com ramificações entre as células vizinhas (Al-Mohanna et al., 1985b). As células localizadas na região distal exibem características de células em estágios iniciais de atividade celular. Nessas células jovens, o núcleo está rodeado por uma fina camada de citoplasma que apresenta retículo endoplasmático reduzido e complexo de Golgi com pequenas cisternas, contendo material elétron denso,

juntamente com alguns ribossomos, mitocôndrias e partículas semelhantes à glicogênio (Al-Mohanna et al., 1985b).

As células localizadas na região medial-distal dos túbulos hepatopancreáticos apresentam complexo de Golgi proeminente e bem desenvolvido, com numerosas vesículas, que estão aderidas diretamente aos corpos elétrondensos imaturos. Essas vesículas aparentemente representam estágios para a formação de grânulos grandes e densos, com acúmulo progressivo e formação de um aspecto diferenciado das células nesse estágio de desenvolvimento. Os grânulos densos também parecem emergir envoltos de membrana, com inclusões semi-densas, contendo material granular. Esses grânulos parecem estar em estágio intermediário para a formação de grandes e imaturos corpos densos. O retículo endoplasmático rugoso torna-se mais conspícuo que nos estágios iniciais de atividade das células M. Ribossomos livres estão presentes no citoplasma, ocorrendo sozinhos ou como polirribossomos, juntamente com mitocôndrias (Al-Mohanna et al., 1985b). Esses aspectos parecem ser um processo contínuo de amalgamação de todas as inclusões para formar um único corpo denso no citoplasma, durante a migração da célula M através dos túbulos hepatopancreáticos (Al-Mohanna et al., 1985b). Com o aumento do tamanho do corpo denso, o citoplasma fica reduzido a uma fina camada e o núcleo vai tornando-se comprimido em um lado da célula. Ao mesmo tempo, longas lamelas de retículo endoplasmático rugoso desenvolvem-se e se tornam mais conspícuos (Al-Mohanna et al., 1985b).

Células M, maduras, com um único e maturo corpo denso são sempre encontradas na região proximal do túbulo hepatopancreático. Esses corpos densos estão envoltos por membrana e contém matriz homogênea com alta elétrion-densidade. O citoplasma circundante contém retículo endoplasmático rugoso e um único e proeminente complexo de Golgi, juntamente com poucas mitocôndrias e partículas semelhantes a glicogênio. O complexo de Golgi apresenta cisternas achatadas que contém material de baixa elétrion-densidade (Al-Mohanna et al., 1985b).

- **Seqüência de diferenciação celular**

Guieysse (1904) propôs um dos primeiros modelos para diferenciação seqüencial no hepatopâncreas de decápodos, e até o momento, mais nove outros modelos foram sugeridos (Icely & Nott, 1992). A partir de Guieysse, todos os outros trabalhos identificaram as células E como fonte das células diferenciadas presentes nos túbulos hepatopancreáticos (Icely & Nott, 1992). As células E são relativamente indiferenciadas quando comparadas com os outros tipos celulares e são as únicas células hepatopancreáticas que realizam mitose (Al-Mohanna et al., 1985a; Vogt, 1985; Icely & Nott, 1992). Em geral, estudos recentes abrangendo a citologia do hepatopâncreas de decápodos estão em concordância com o modelo proposto por Hirsch & Jacobs (1930) (Icely & Nott, 1992; Corrêa Jr et al., 2002). Esse modelo propõe que as células R e F são derivadas, separadamente das células E, e as células B se desenvolvem a partir das células F. Esse modelo encontra suporte em

observações como: (1) Células R e F estão localizadas adjacentes às células E, as quais produzem uma fonte de divisão celular (Loizzi, 1971); (2) a ultraestrutura das células B mostram mais aspectos comuns com as células F do que com as células R (Loizzi, 1971); (3) observa-se células com estágios de desenvolvimento intermediários entre as células F e B (Al-Mohanna et al., 1985a); (4) o número de células B ao longo do túbulo parecem estar inversamente proporcional ao número de células F (Al-Mohanna & Nott, 1989); e (5) a degeneração das células R e B é evidenciada nas regiões mais proximais dos túbulos hepatopancreáticos (Loizzi, 1971), enquanto somente poucos estudos enfatizam a degeneração das células F (Hopkin & Nott, 1979), e a maioria sugere que as células F constituem um estágio de desenvolvimento das células B (Gibson & Barker, 1979).

Apesar das observações anteriores, Vogt (1985) ratifica o modelo proposto por Ogura (1959), no qual cada tipo celular deriva independentemente da célula E. Vogt (comunicação pessoal) observou em *Penaeus monodon* que as células B jovens, que ainda não apresentam vacúolos desenvolvidos, podem ser distinguidas de células F jovens e de células R através da elétrons-densidade do citoplasma e da ultraestrutura do retículo endoplasmático rugoso assim como do complexo de Golgi (Icely & Nott, 1992). Ainda, enfatizou que as evidências de estágios intermediários entre as células F e B não são claras e que o desenvolvimento inicial do complexo apical foi negligenciado em alguns estudos (Icely & Nott, 1992). Entretanto, Al-Mohanna et al. (1985a) estudando *Penaeus semisulcatus* identificaram células que

apresentam vacúolos enzimáticos residuais, assim como, vesículas pinocíticas. Essas vesículas pinocíticas parecem fazer parte do desenvolvimento do complexo apical. (Icely & Nott, 1992).

Em contraste a essas teorias, Caceci et al. (1988) concordam com a teoria de Jacobs (1928) sobre o desenvolvimento seqüencial das células E, R, F e B no hepatopâncreas de *Penaeus vannamei*. Esses autores evidenciaram, através de microscopia de luz, células intermediárias entre todos os tipos celulares. Entretanto essas observações divergem das que evidenciam três distintas seqüências de diferenciação celular em camarões peneídeos (Icely & Nott, 1992). Vogt (comunicação pessoal) sugere que essas contradições podem ser resolvidas estudando a ultraestrutura do complexo de Golgi durante os estágios iniciais de desenvolvimento celular, uma vez que esse complexo apresenta características únicas para cada tipo celular (Icely & Nott, 1992).

- **Função do Hepatopâncreas**

O hepatopâncreas é responsável pela produção de enzimas digestivas e assimilação de nutrientes (Hoppe-Seyler, 1877). O papel específico dos diferentes tipos celulares no hepatopâncreas é inferido através das observações morfológicas, da localização histoquímica de enzimas digestivas e da assimilação de nutrientes (Icely & Nott, 1992). Observações no epitélio do hepatopâncreas podem relatar o ciclo digestivo (Icely & Nott, 1992). Desta forma, Loizzi (1971) e Gibson & Barker (1979), produziram modelos sobre o

papel do hepatopâncreas no sistema digestório de decápodos. Assim, as enzimas digestivas são produzidas nas células F e seqüestradas em vacúolos supranucleares, os quais se expandem para formar um grande vacúolo presente nas células B. As enzimas do vacúolo são liberadas periodicamente, após a ingestão alimentar, por secreção apócrina, merócrina ou holócrina, dependendo da espécie e da condição alimentar do animal.

Alguns nutrientes e fluídos são absorvidos nas células F e B através de pinocitose e outros são assimilados pelas células R, através da digestão de contato nos microvilos, e subsequente transporte molecular para dentro da célula. Barker & Gibson (1977; 1978) sugeriram que uma digestão adicional ocorra dentro das células R. Os produtos finais da digestão são tanto transferidos para a hemolinfa quanto estocados na forma de lipídios e glicogênios nas células R.

A degeneração do revestimento epitelial libera material residual e talvez contribua com enzimas digestivas para o processo de digestão no lúmen dos túbulos hepatopancreáticos. Aspectos desse modelo foram modificados uma vez que a alimentação, a inanição e o ciclo de mudas influenciam diretamente nas células do hepatopâncreas (Icely & Nott, 1992).

- **Influência da alimentação**

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. Esses grânulos foram provavelmente sintetizados no retículo endoplasmático rugoso, transferidos para o complexo de Golgi para serem empacotados e finalmente, liberados no lúmen dos túbulos hepatopancreáticos por exocitose. Em *Penaeus monodon*, os vacúolos são observados na região apical do citoplasma da célula F (Vogt, 1985). Estudos imunohistoquímicos em *Astacus astacus* mostraram que esses vacúolos apresentavam proteases *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. Marcadores radioativos do suco gástrico recém sintetizado, em combinação com a imunofluorescência demonstraram que a protease em *Astacus* é secretada pelas células F e transportada para o estômago para esperar a próxima alimentação. Não foram encontradas evidências dessa protease nas células B e R (Vogt et al., 1989). A taxa máxima de exocitose ocorreu 1 hora após a alimentação e a descarga das secreções durou entre 3 e 4 horas, porém numa taxa reduzida (Al-Mohanna et al., 1985a) e não foi mais observado em nenhum outro estágio do ciclo digestivo (Vogt, 1985). Durante esse período as células F não realizam absorção. Terminando o processo secretório realizado pelas células F, ocorre diferenciação das mesmas em células B. Fenômeno caracterizado 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 luminal (Brunet et al, 1994).

A absorção de material pelas células B começa cerca de 30 minutos após a ingestão de alimento e se continua até o final da terceira hora em *Penaeus semisulcatus* (Al-Mohanna & Nott, 1986b). Porém, em *Carcinus maenas*, a absorção de material por essas células perdura por um longo período (Hopkin & Nott, 1980). Após a fase de alimentação, vesículas pinocíticas se coalescem em vacúolos. Esses vacúolos se fundem com as vesículas oriundas do complexo de Golgi para formar densos corpos digestivos, os quais eventualmente ocupam a maior parte do volume celular, correspondendo ao aparato vacuolar. Cisternas do retículo endoplasmático rugoso e numerosos dictiosomos são observados próximo ao núcleo. A presença dessas cisternas está, provavelmente, relacionada à síntese de enzimas lisossomais (Al-Mohanna & Nott, 1986b). As células B também absorvem outras enzimas do lúmen tubular hepatopancreático, juntamente com os nutrientes por endocitose no complexo apical (Al-Mohanna & Nott, 1986b).

Após 4 horas da alimentação, a intensidade pinocítica diminui. Regiões translúcidas aparecem nos corpos digestivos densos e gradativamente, aumentam de tamanho, até tomar todo o material denso (Al-Mohanna & Nott, 1986b). Possivelmente um indicativo de processo de digestão intracelular do conteúdo do corpo digestivo. Desta forma, o aparato vacuolar provavelmente corresponda a um grande sistema lisossomal (Brunet et al, 1994). Os produtos da digestão intracelular são transferidos para a hemolinfa através da lâmina basal ou para células R adjacentes (Al-Mohanna & Nott, 1986b).

Doze horas após a alimentação, a digestão intracelular termina e as células B são caracterizadas por uma extrema vacuolização. A maioria desses vacúolos contém numerosas esferas densas ricas em enxofre (Al-Mohanna & Nott, 1986a). E decorridas 24 horas, um único e enorme vacúolo ocupa a maior parte do volume celular, tendo início a fase de extrusão. Durante esse processo, as células B saem do epitélio e se separam da lâmina basal. Muitas células B soltas são observadas no lúmen tubular e nos péletes fecais. Elas são trocadas por células F através da divisão mitótica (Al-Mohanna & Nott, 1986b). Desta forma as células B desempenham papel tanto na digestão intracelular como na excreção de produtos residuais do metabolismo digestivo. As células B não apresentam função secretora, sendo que essa função é exclusiva da célula F. Em contraste com outros tipos celulares especializados em secreção enzimática, a síntese e a secreção de produtos da célula F não apresentam elementos em processos cíclicos, uma vez que elas são encontradas somente em uma fase do período vital desse tipo celular (Brunet et al., 1994).

Entretanto, em contraste aos achados para *Penaeus semisulcatus* (Al-Mohanna & Nott, 1986a), nenhuma partícula inerte da dieta foi observada nas células B em *Carcinus maenas* (Hopkin & Nott, 1980). Nesta última espécie, as partículas inertes resultantes da digestão intracelular foram observadas retidas por uma membrana peritrófica, a qual é removida de 24 a 48 horas após a alimentação. Essa membrana peritrófica não é comum no hepatopâncreas, da

maioria dos decápodos, mas a formação dessa membrana pode ser induzida pela absorção de partículas finas ou por infecção viral (Al-Mohanna, 1983).

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 (Al-Mohanna & Nott, 1986a). E em *Penaeus monodon* estocam apenas lipídios (Vogt et al., 1985). Essa diferença de inclusão celular pode estar relacionada ao tipo de alimentação oferecida aos animais (Brunet et al., 1994).

Em *Penaeus semisulcatus* as células R apresentam um vacúolo de estocagem supranuclear. Após 1 a 2 horas da alimentação, inclusões densas são observadas dentro da membrana celular sem que haja pinocitose. A região apical apresenta uma proliferação de retículo endoplasmático liso em continuidade com o rugoso. O vacúolo supranuclear se desenvolve próximo ao retículo endoplasmático rugoso e está rodeado por numerosos vacúolos pequenos e dictiossomas ativos. Vesículas de Golgi contribuem com a formação dos corpos multivesiculares que se fundem com o vacúolo. Todas essas organelas parecem transferir metabólitos solúveis difusíveis através da membrana celular para o vacúolo. O glicogênio e o lipídio são estocados no citoplasma (Al-Mohanna & Nott, 1987b).

Vinte e quatro horas após a alimentação a maioria dos retículos endoplasmático rugoso e liso foi removida da parte apical da célula R, porém

observa-se retículo endoplasmático liso bem desenvolvido na porção basal da célula. As vesículas pinocíticas apresentam-se na base da célula, o que indica a última porção de material resultante da digestão intracelular da célula B, sendo que são removidas da hemolinfa através da absorção das células R (Al-Mohanna & Nott, 1987b).

Assim, as 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 glicogênios, enquanto metais são acumulados no vacúolo supranuclear (Brunet et al, 1994). Desta forma, as células R apresentam função de detoxificação através da estocagem de metais sob forma insolúvel dentro do vacúolo (Hopkin & Nott, 1979).

As utilizações subseqüentes da maioria das substâncias estocadas nas células R estão principalmente ligadas ao ciclo de muda (Al-Mohanna & Nott, 1989). Alguns elementos químicos e sais minerais também foram detectados em células R de alguns decápodos (Brunet et al., 1994). Esses materiais são provavelmente utilizados durante o período de pós-muda quando a quantidade de fósforo diminui devido à formação do exoesqueleto (Brunet et al., 1994). As funções descritas para a célula R de *Penaeus semisulcatus* estão de acordo com os modelos clássicos que descreveram o papel dessa célula no hepatopâncreas de decápodos (Loizzi, 1971; Gibson & Barker, 1979).

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

glicogênio e material protéico ocorre em um grande vacúolo. Quando o animal pára de se alimentar, antes e após a muda, esse material é usado para a manutenção celular (Brunet et al., 1994). Partículas inertes de ouro coloidal e dióxido de tório localizados na dieta, não foram absorvidos pelas células M, embora a ferritina possa entrar nessas células e se acumular nos corpos densos (Icely & Nott, 1992). As enzimas hidrolíticas mostraram-se associadas com o complexo de Golgi e com grânulos. Porém somente a fosfatase ácida tem sido identificada ao redor do grande corpo denso (Al-Mohanna & Nott, 1987b). Presumivelmente, essas enzimas estão envolvidas com a condensação do material absorvido e sua subsequente mobilização (Icely & Nott, 1992).

- **Influência da inanição**

Vários autores observaram os efeitos da inanição na ultraestrutura do hepatopâncreas em decápodos (Storch & Welsch, 1977; Storch et al., 1982; Storch & Anger, 1983; Papathanassiou & King, 1984; Vogt et al., 1985). Esses autores descrevem várias mudanças em comum como a redução do tamanho celular, a condensação da cromatina nuclear, a descontinuidade da borda em microvilos, o aumento da lâmina basal, a redução do número de mitocôndrias, tanto a expansão como a condensação das mitocôndrias, a redução dos estoques de lipídio e glicogênio, a descontinuidade do retículo endoplasmático, e aumento no número de corpos residuais. A influência da inanição é mais evidente nas células R (Icely & Nott, 1992).

A larva de *Hyas araneus* (Storch & Anger, 1983) e a pós larva de *Penaeus monodon* (Vogt et al., 1985) podem sobreviver mais que 15 dias sem alimentação, sendo que o hepatopâncreas não foi totalmente restabelecido mesmo após cinco dias de alimentação. Entretanto, o hepatopâncreas de *Caenobita rugosus* (Storch & Welsch, 1977) e de *Birgus latro* (Storch et al., 1982) podem reestabelecer totalmente as funções hepatopancreáticas, mesmo após a inanição por alguns meses.

- **Influência da Muda**

As mudanças das células hepatopancreáticas de *Penaeus semisulcatus* também foram observadas, uma vez que os animais não se alimentam durante o período inicial de pré-muda. Nesse período as células F estão em sua frequência mínima, e as células B estão em sua frequência máxima (Al-Mohanna & Nott, 1989). Na extremidade distal do túbulo, as células B absorvem material luminal o qual é derivado, presumivelmente, das descargas realizadas pelas células R, uma vez que não há suplemento energético do ciclo alimentar. Na porção medial do túbulo, as células B estão envolvidas com a assimilação e digestão intracelular (Icely & Nott, 1992). Em contraste ao estágio de alimentação, estudos realizados com auxílio de raio-X, observaram metais nos resíduos densos dentro dos vacúolos digestivos. Esses resíduos são extrusados no vacúolo da região proximal do túbulo hepatopancreático, durante os estágios iniciais de pré-muda.

No início da pré-muda, nas células R, ocorre uma maior concentração de lipídeos e glicogênio. Essa formação é estocada primariamente na região proximal do túbulo e posteriormente na região distal. Além disso, há grandes inclusões apicais que contêm metais. Com o progresso da pré-muda, as células R na região proximal, particularmente aquelas adjacentes às células B, expõem seu conteúdo no lúmen tubular. O restabelecimento celular do epitélio é realizado a partir da mitose das células E, na porção distal em fundo cego dos túbulos hepatopancreático. Nenhuma mitose ocorre até o recomeço do próximo ciclo alimentar (Al-Mohanna, 1983).

As células F, juntamente com as células R dominam o epitélio tubular durante os estágios iniciais de pós-muda. As células F mais proximais apresentam um vacúolo supranuclear bem desenvolvido e um extenso retículo endoplasmático rugoso, porém não existem enzimas no vacúolo (Icely & Nott, 1992). Em contraste, as células B estão confinadas na região proximal distal do túbulo e são caracterizadas por um grande vacúolo, o qual, não é extrusado no lúmen e presumivelmente reflete na condição de inanição dos estágios de pós-muda.

As células R durante os estágios de pós-muda apresentam um extenso sistema endoplasmático rugoso, o qual está em continuidade com um grande vacúolo na região apical do citoplasma celular. Esse vacúolo parece acumular uma variedade de materiais residuais, incluindo lipídio, glicogênio e cobre. A redução de material estocado nas células R está acompanhada pela digestão

dos corpos densos nas células M (Al-Mohanna, 1983). Esse fato parece estar ligado com a mobilização do material estocado durante o período de pré- e pós-mudas, para sustentar os decápodas durante o estágio não alimentar do ciclo. Além disso, essas mudanças citológicas promovem um mecanismo para salvar elementos essenciais e excretar elementos não essenciais. Mudanças citológicas similares provavelmente ocorram no hepatopâncreas de outros decápodas durante o ciclo de muda (Icely & Nott, 1992).

Em geral, os pesos totais do hepatopâncreas e das reservas orgânicas e inorgânicas estão reduzidos durante o período de muda e aumenta subsequente após o período de intermuda (Al-Mohanna & Nott, 1989). Existem diferentes tipos de reservas inorgânicas em decápodas, como metais associados às inclusões lisossomais em células R contendo sulfatos (Al-Mohanna, 1983), e estruturas granulares concêntricas, que aparecem nos estágios iniciais de pré-muda e contém fosfatos (Al-Mohanna & Nott, 1986a; 1989).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a glândula do intestino médio (hepatopâncreas), descrevendo características macroscópicas e microscópicas, tais como seus os tipos celulares e a organização de seus ductos e túbulos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente estudo foram utilizados 30 exemplares adultos do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*. Os animais foram transferidos dos viveiros de reprodutores do Setor de Carcinicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Campus de Jaboticabal – SP, para unidades experimentais. Estas apresentavam capacidade para 1000 L, filtro biológico central, aeração e termostatos, caracterizando um sistema fechado.

Os animais foram mantidos nas unidades experimentais sem receber alimentação por um período de 48 horas. Após esse período, 20 animais foram mortos por hipotermia e dissecados para observações macroscópicas e histológicas do hepatopâncreas. Para tanto, o órgão foi coletado e fixado por 24 horas em solução Karnovsky (Karnovsky, 1965). Após fixação, as amostras foram lavadas em solução de tampão fosfato e mantidas em álcool 70% para inclusão em Histo-resina (Histo-resin – Leica/Alemanha). Realizaram-se cortes seriados de 3 μm que foram corados com Hematoxilina e Eosina (H/E). O hepatopâncreas foi descrito assim como sua ligação com o intestino médio. Para caracterização das células hepatopancreáticas realizou-se reação de Azul de Toluidina 1%.

Para descrição das ramificações dos túbulos do hepatopâncreas 10 animais foram submetidos a injeções de nanquim. Para tanto, os animais foram

sacrificados por hipotermia e a carapaça do cefalotórax foi retirada cuidadosamente a fim de se expor os órgãos internos. Com auxílio de seringa e agulha de insulina foi injetado nanquim, a partir do estômago, e observou-se sua dispersão pelo hepatopâncreas e intestino. Cabe destacar que, após injeção, estômago e intestino foram amarrados evitando possível perda de nanquim (Fig. 1). Posteriormente, o órgão do animal foi retirado e fixado em solução de Bouin por 48 horas. Após esse período, o material foi submetido à rotina histológica e inclusão em Paraplast. Foram obtidos cortes seriados a 12 μ m e corados em Hematoxilina e Eosina (H/E).

A análise e a fotodocumentação dos cortes foram realizadas em fotomicroscópio Olympus BX 40 acoplado a um sistema de câmera digital Olympus DP12.

RESULTADOS

O hepatopâncreas (Fig. 1 e 2) é um órgão maciço, friável, de coloração amarelo-acastanhada, e está revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo (Figs. 6, 7 e 9). Este órgão ocupa grande parte da cavidade cefalotorácica e está organizado em duas metades (lobos): direita e esquerda, as quais envolvem o tubo digestivo na altura da transição do estômago com intestino. Cada metade está subdividida em quatro regiões (cranial, caudal, dorsal e ventral). Cada região está constituída por uma série de túbulos secretores ou lóbulos hepatopancreáticos que se iniciam em fundo cego, cujos lúmens correm em direção à abertura do hepatopâncreas no estômago (Figs. 3 e 6).

A partir da junção do hepatopâncreas com o estômago (Figs. 3, 4 e 5) identifica-se um grande túbulo principal direito e um esquerdo (Fig. 3), dos quais partem os túbulos secundários em direção a cada região lobar do hepatopâncreas (Fig. 3). O teto e o assoalho deste túbulo principal não constituem uma parede; a luz do túbulo principal diminui progressivamente e ambos, teto e assoalho, terminam em fundo cego como um túbulo secretor (Fig. 3). O túbulo secretor secundário dorsal, que se dirige para o lobo dorsal está situado na região mediana do túbulo principal (Fig. 3). Logo em seguida, na região mediana do túbulo principal, situa-se o túbulo secretor secundário ventral, que dirige-se ao lobo ventral (Fig. 3). Na região cranial do túbulo principal, identifica-se o túbulo secretor secundário que se dirige ao lobo

cranial, e em sentido contrário, ou seja, na região caudal do túbulo principal, identifica-se o túbulo secretor secundário caudal, que se dirige ao lobo caudal (Fig. 3).

Os túbulos secretores secundários à medida que adentram as respectivas regiões do hepatopâncreas se ramificam e constituem os túbulos secretores propriamente ditos (Fig. 3). Esses túbulos secretores correm paralelamente entre si em direção à periferia do órgão onde terminam em fundo cego (Figs. 6 e 7). Eventualmente antes dos túbulos secretores terminarem em fundo cego pode existir uma ramificação distal (Figs. 6 e 11). Cada túbulo secretor está revestido por um epitélio pseudoestratificado que se apóia na membrana basal respectiva (Fig. 8 e 9). Dois túbulos secretores adjacentes apresentam entre si um discreto tecido conjuntivo frouxo com células mioepiteliais, que delimita o espaço hemolinfático, por onde corre hemolinfa (Fig. 9, 10 e 12). Desta forma, a unidade morfológica e funcional do hepatopâncreas consiste de túbulos secretores em fundo cego.

O epitélio de revestimento dos túbulos secretores apresenta diferentes tipos celulares (Figs. 13, 14, 15 e 16). Cada túbulo pode ser diferenciado em três regiões: proximal (próxima do túbulo principal), medial e distal (região do fundo cego) (Figs. 3 e 6). O epitélio dos túbulos hepatopancreáticos consiste de cinco tipos celulares, sendo eles, células E (indiferenciada) (Fig. 17), células F (fibrilar) (Figs. 18 e 19), células R (reabsortiva) (Fig. 18), células B (vesicular) (Figs. 18, 19) e células M (basal) (Figs. 20 e 21).

As células E são cubóides e indiferenciadas (Fig. 17). Essas células apresentam núcleo arredondado e proeminente com vários nucléolos e citoplasma basófilo. Esse tipo celular apresenta região de borda em escova e está localizado na região distal do túbulo hepatopancreático (Figs. 7). Por se tratar de uma célula indiferenciada ela é responsável pela divisão mitótica para renovação do epitélio tubular (Fig. 17).

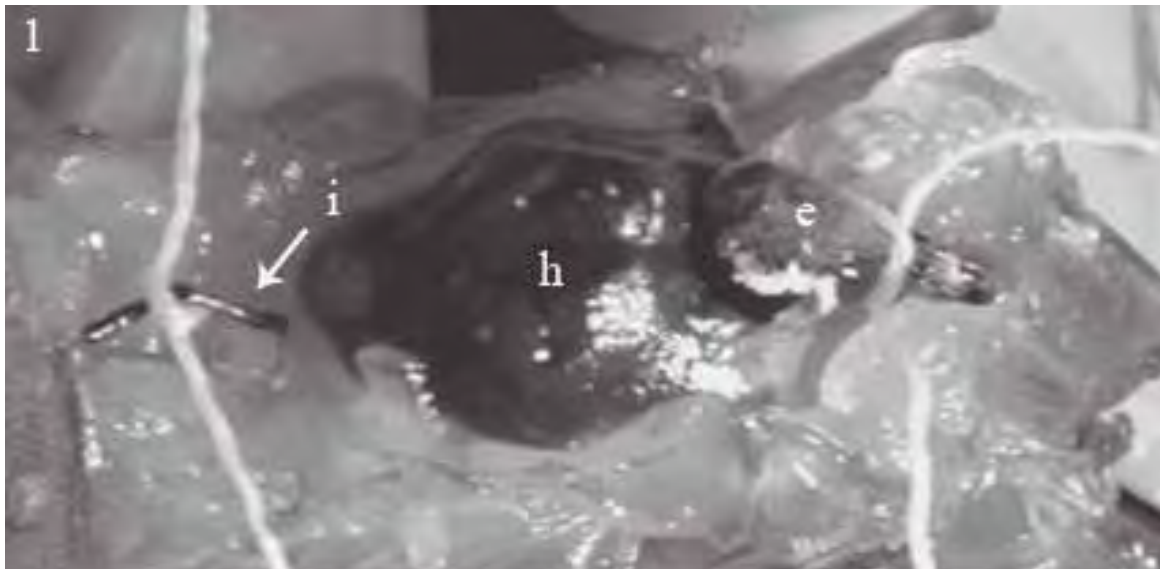
As células F são cilíndricas ou em formato triangular com ápice arredondado (Figs. 18 e 19). Esta célula apresenta região conspícua de borda em escova com núcleo grande e arredondado, e citoplasma com intensa basofilia quando comparado aos demais tipos celulares (Figs. 18 e 19).

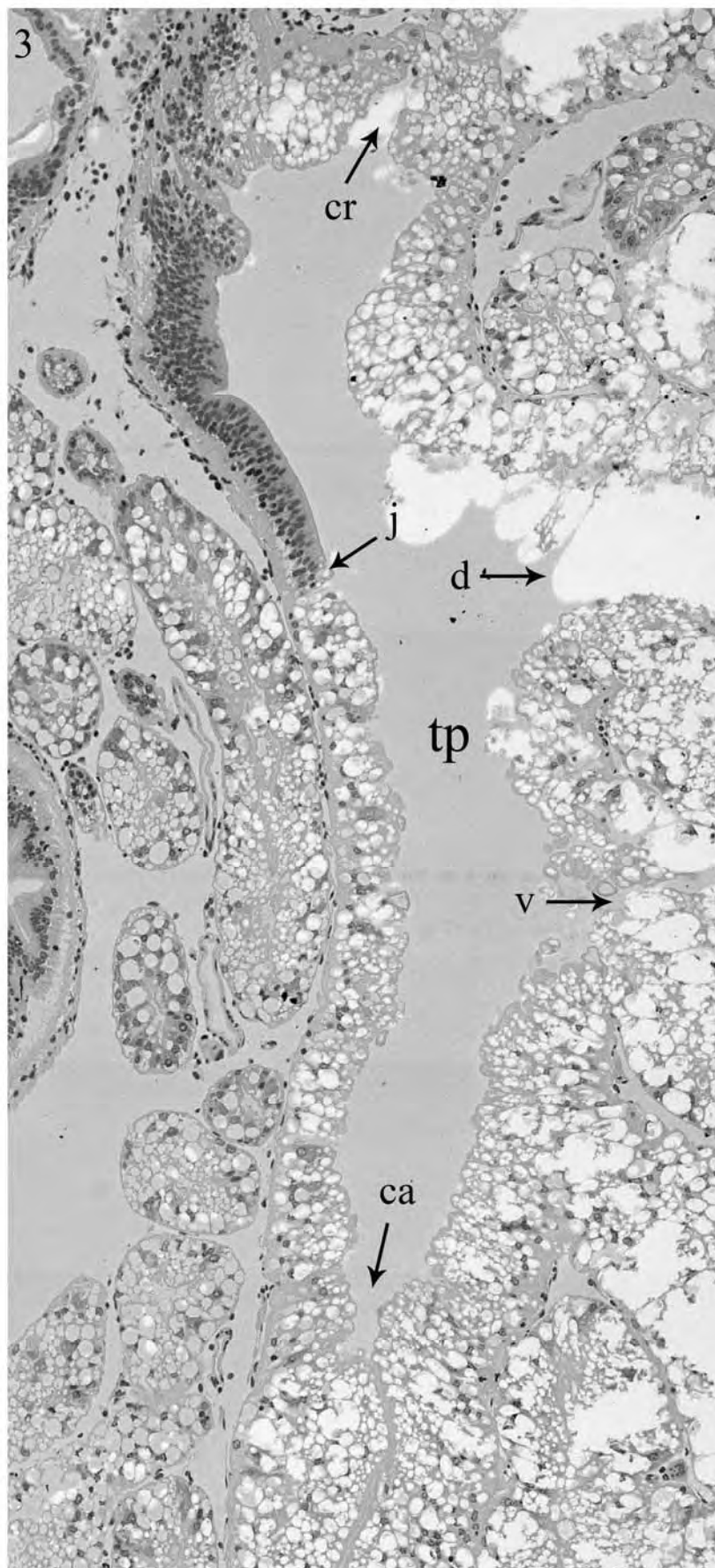
As células R são cilíndricas e apresentam uma conspícua borda em escova (Fig. 18). Essas células apresentam núcleo arredondado predominantemente basal (Figs. 13, 14 e 18). O citoplasma dessas células apresenta vacúolos subapicais característicos (Fig. 18). Esse tipo celular é o mais numeroso e está localizado nas regiões proximal e medial dos túbulos hepatopancreáticos (Figs. 13, 14 e 15).

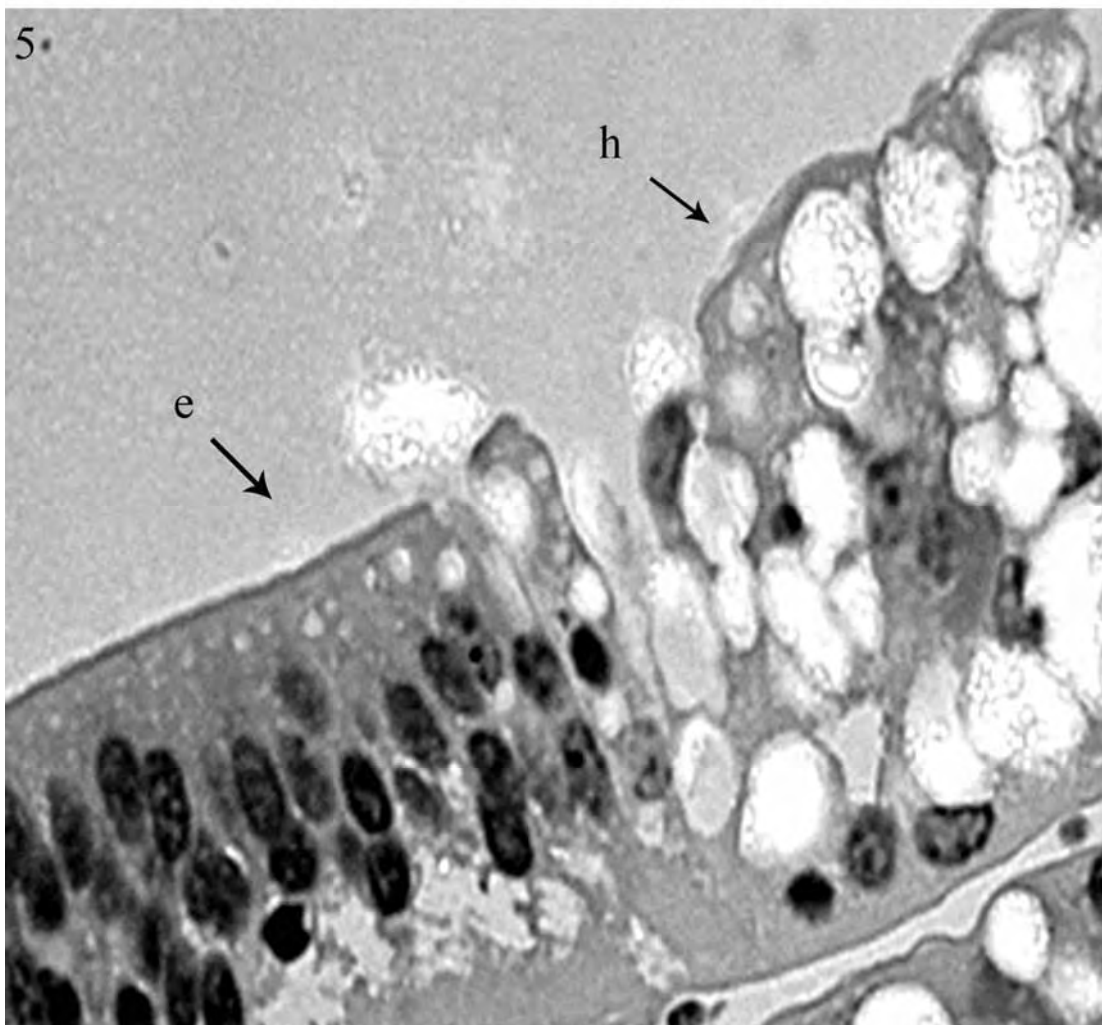
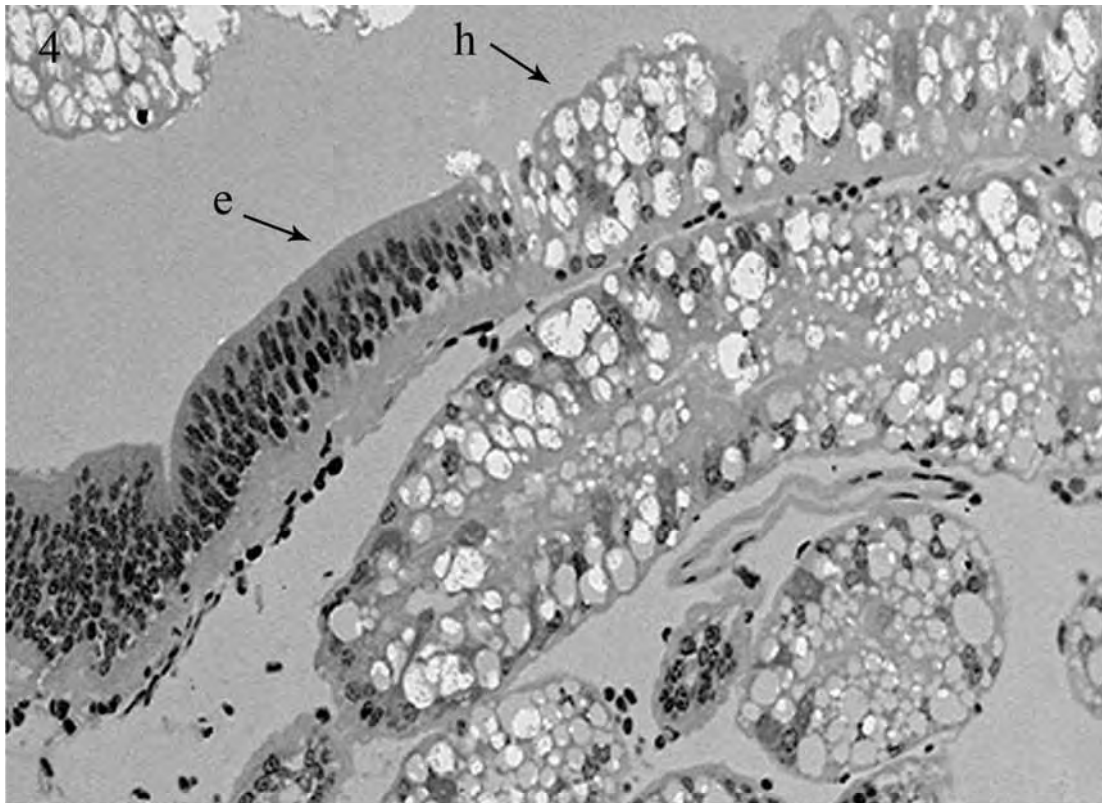
As células B apresentam formato globular com núcleo basal achatado (Figs. 14, 15, 18 e 19). Seu citoplasma apresenta vários vacúolos apicais pinocíticos e um grande vacúolo subapical (Fig. 19). O vacúolo subapical ocupa a maior parte do citoplasma. As células B são abundantes na região medial

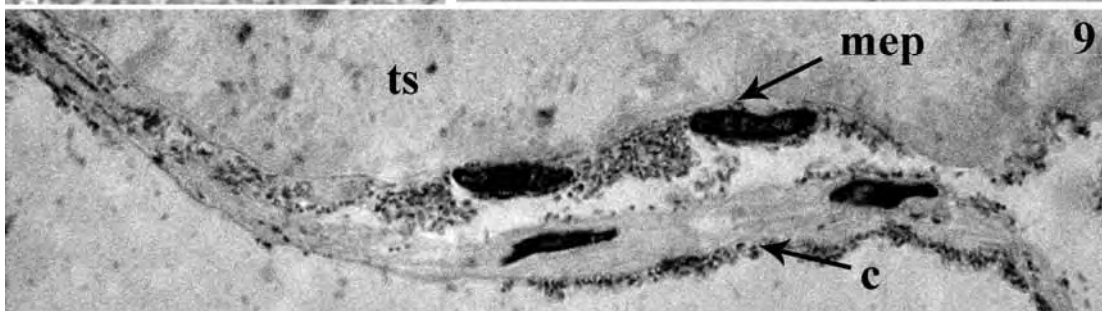
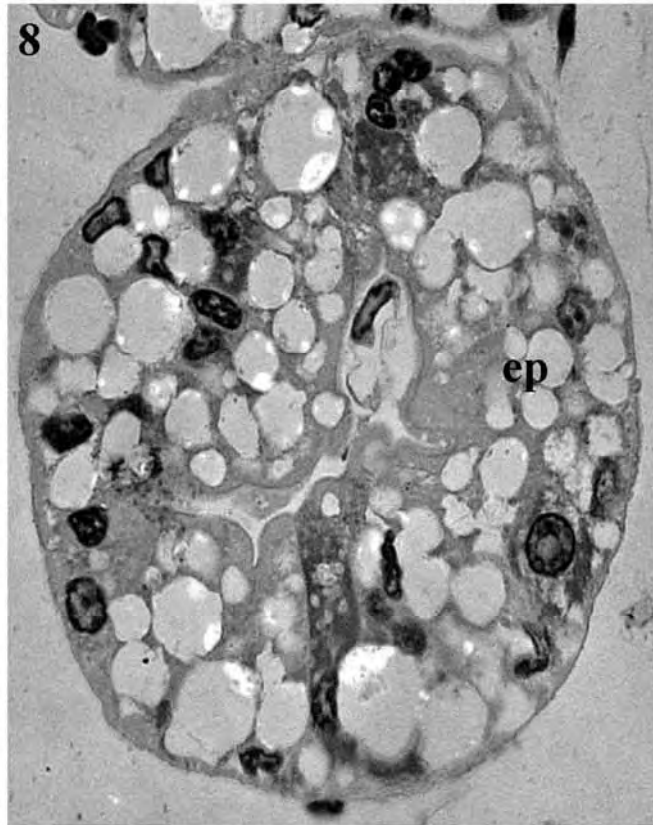
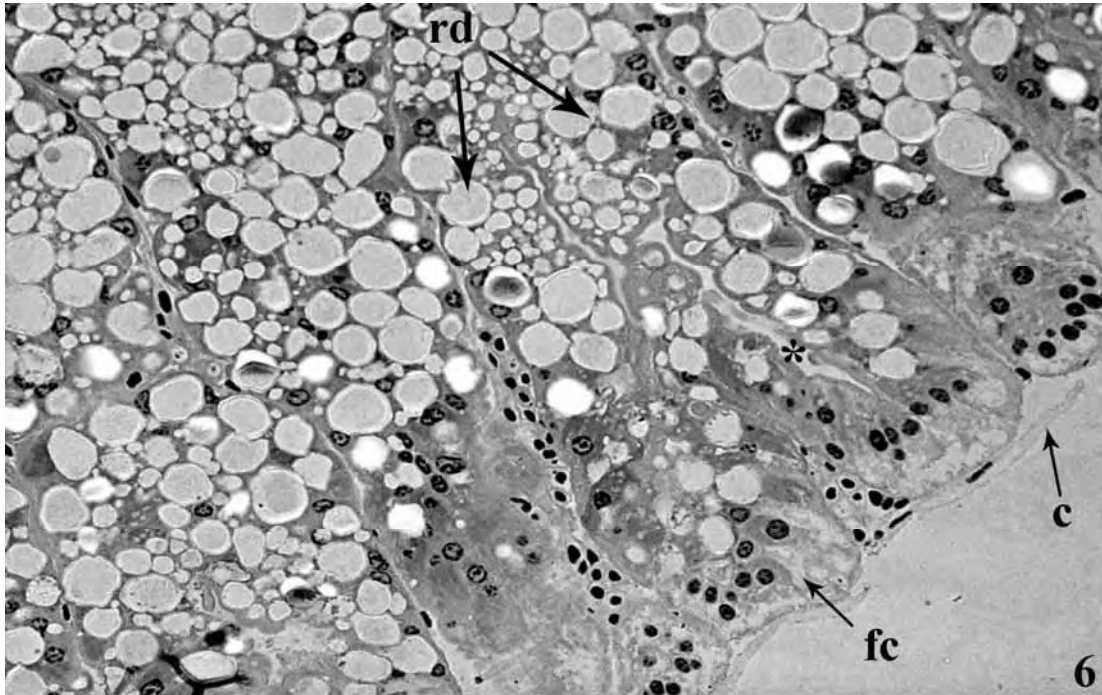
distal dos túbulos, diminuindo sua freqüência à medida que o túbulo secretor se aproxima do túbulo principal (Fig. 11).

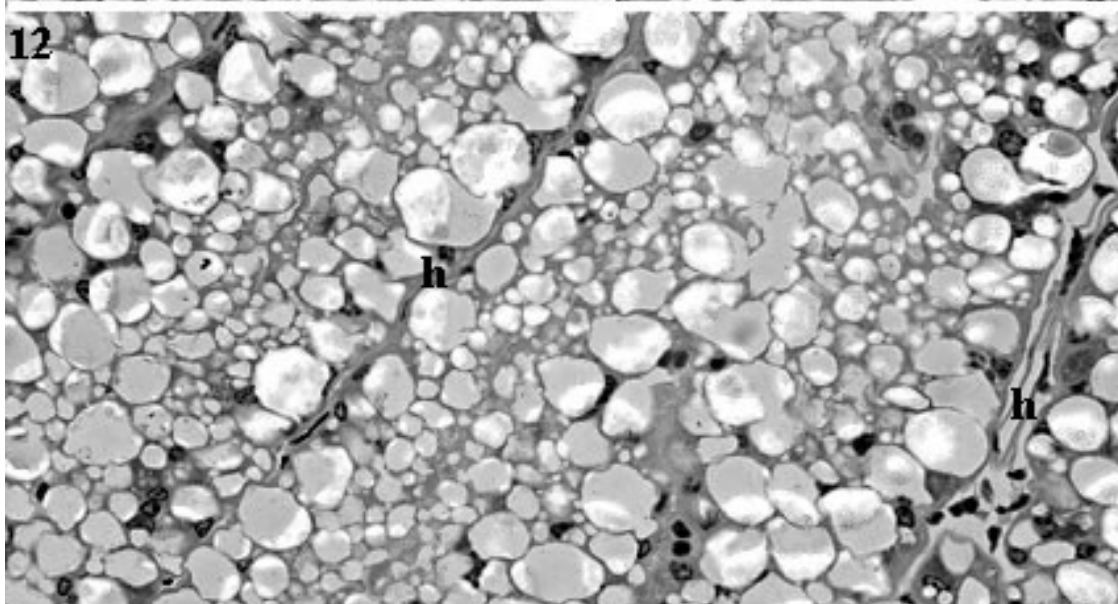
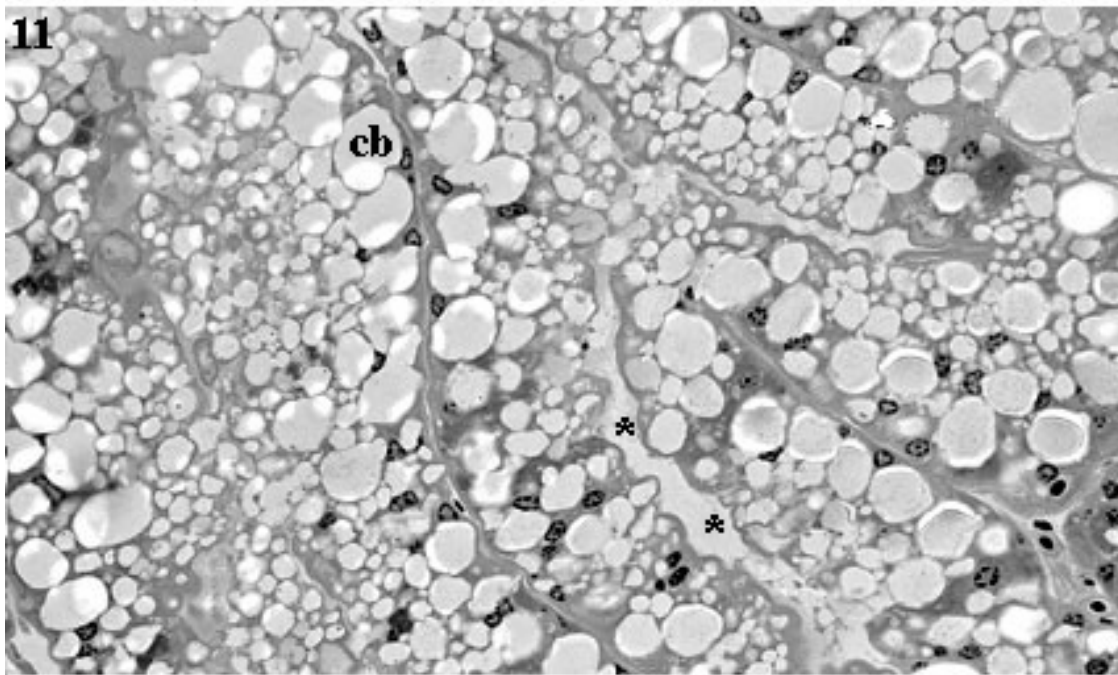
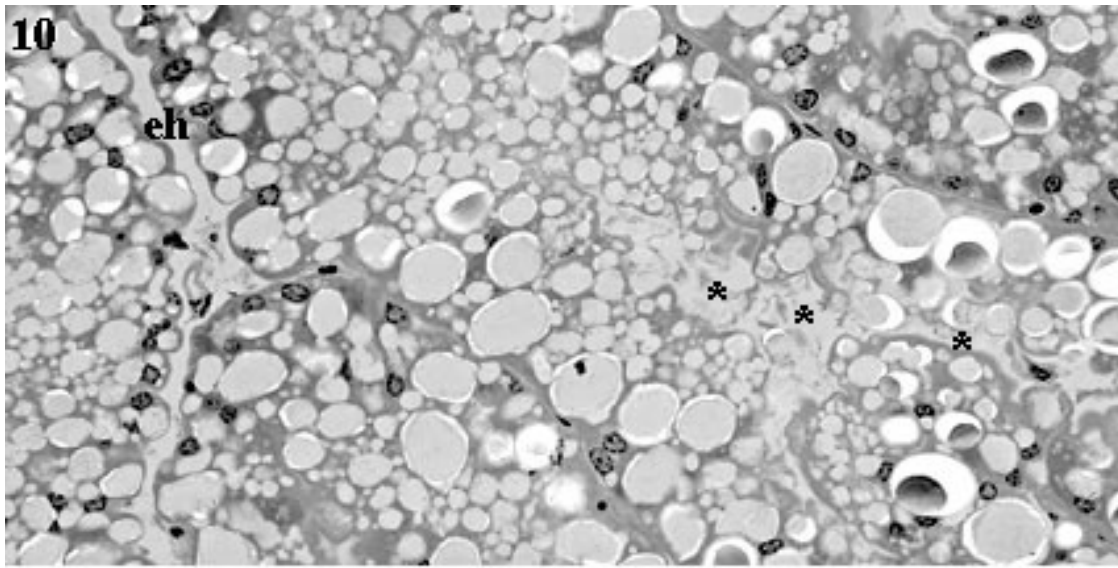
As células M apresentam formato triangular de ápice arredondado, núcleo basal arredondado com vários nucléolos (Figs. 20 e 21), e o citoplasma apresenta intensa basofilia. Essa célula apresenta sua base apoiada na membrana basal e seu ápice não alcança o lúmen do túbulo hepatopancreático, e portanto não apresenta região de borda em escova (Fig. 20).

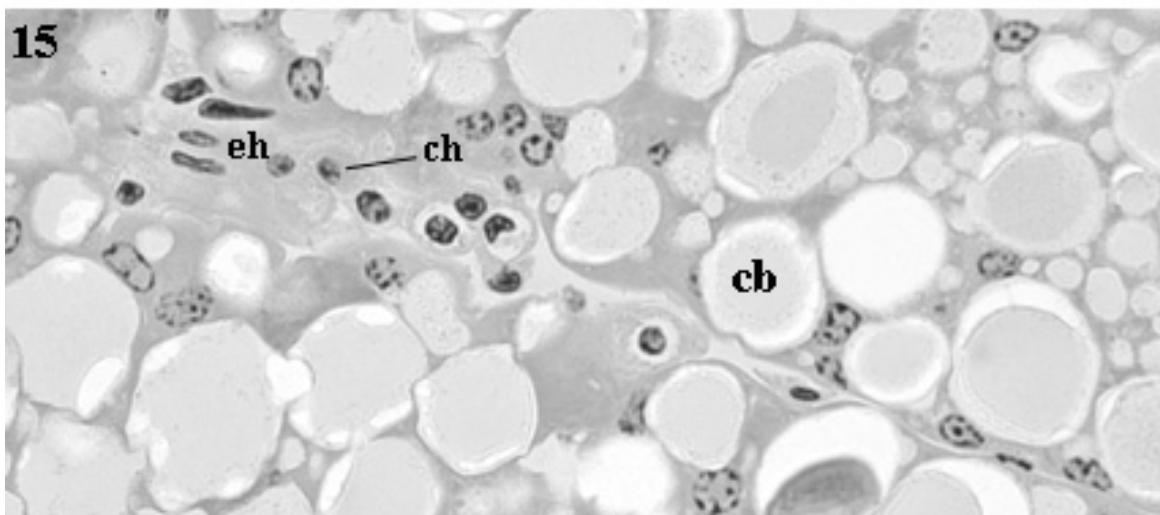
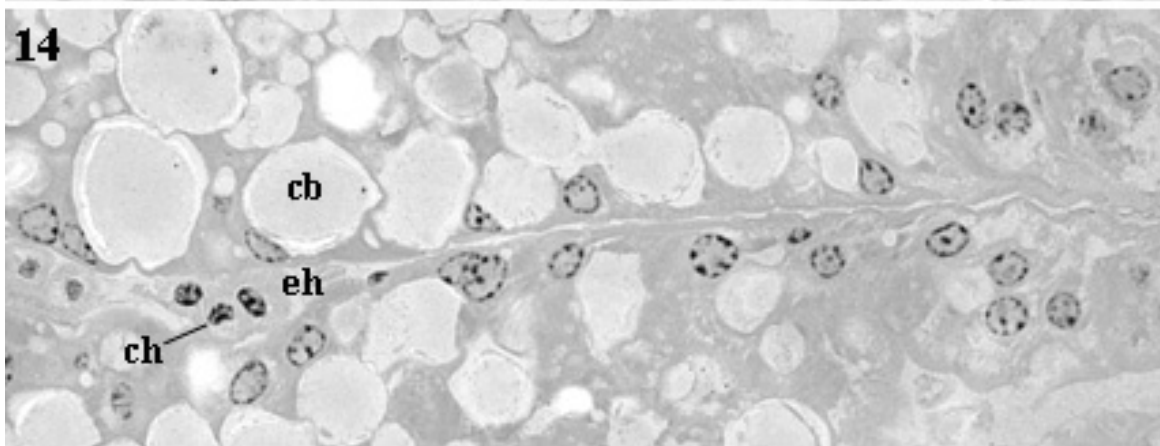
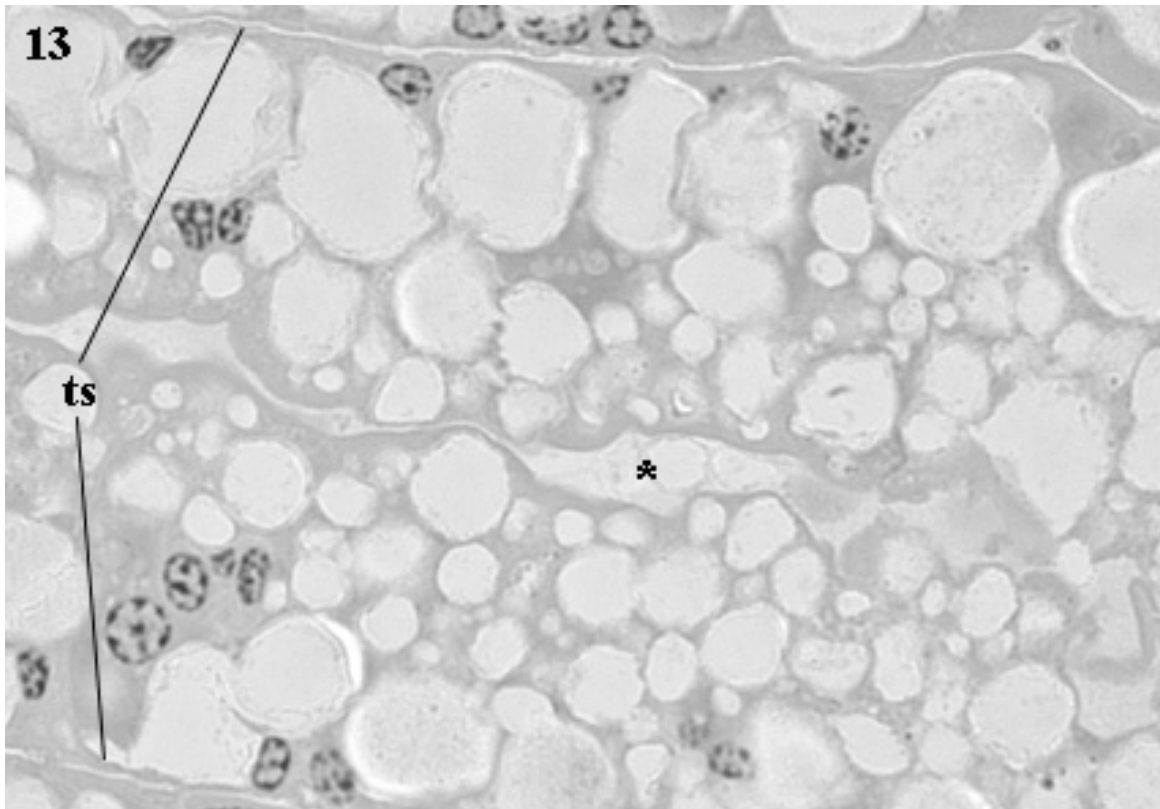


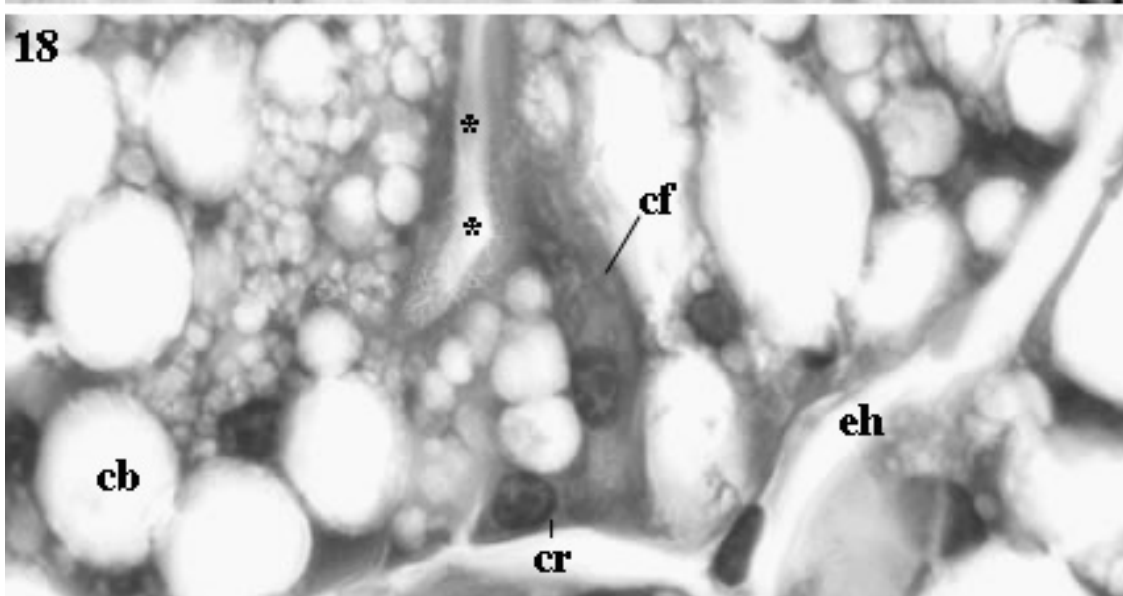
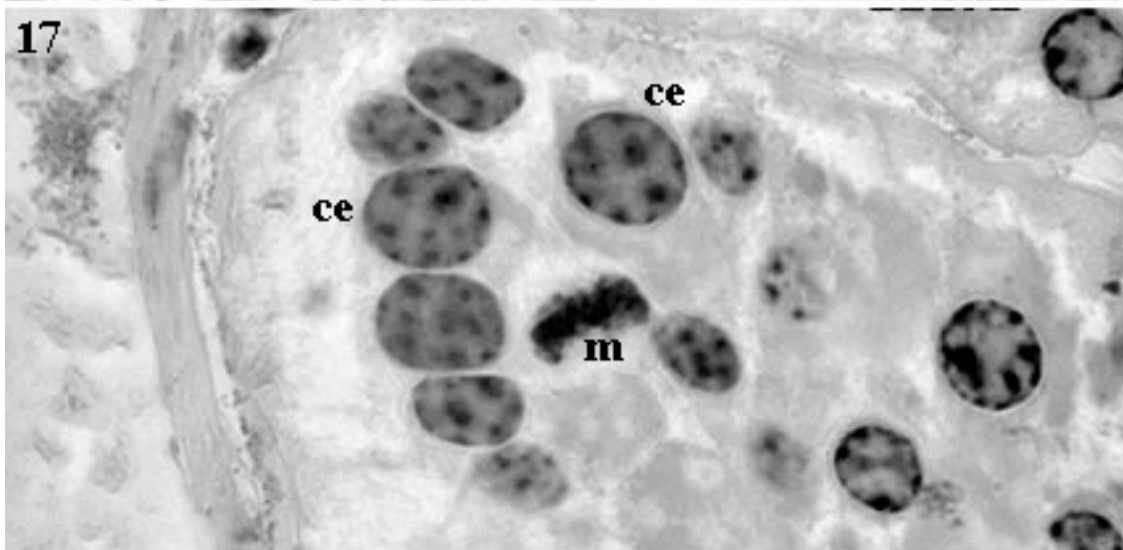
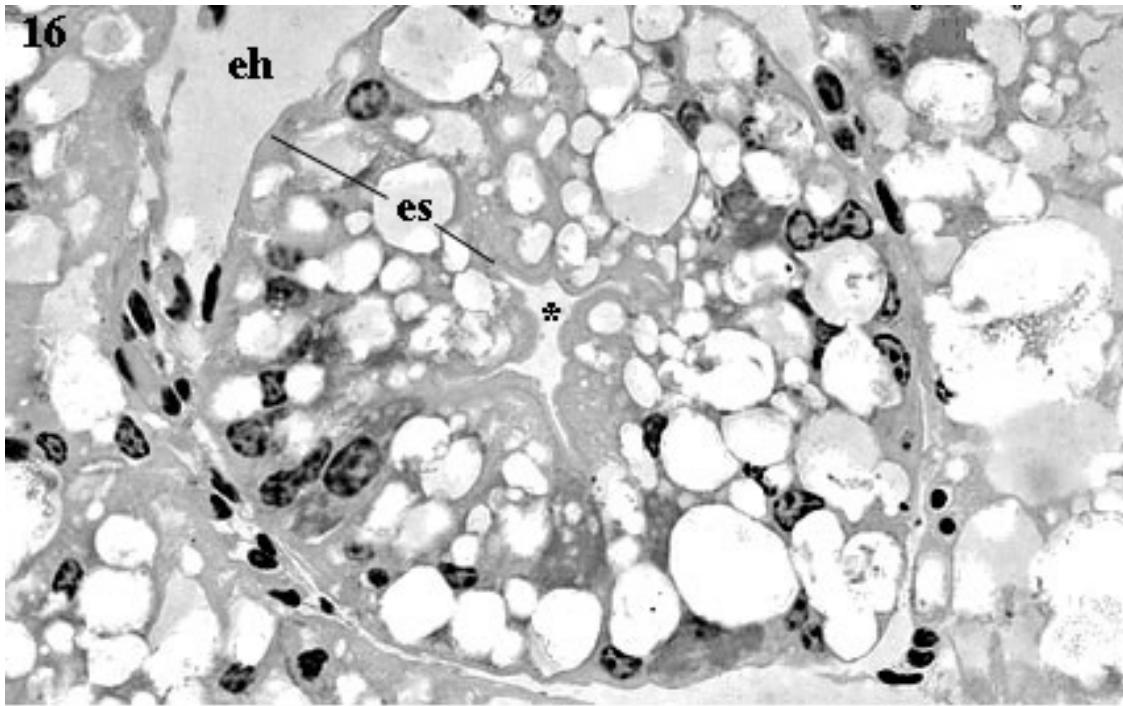


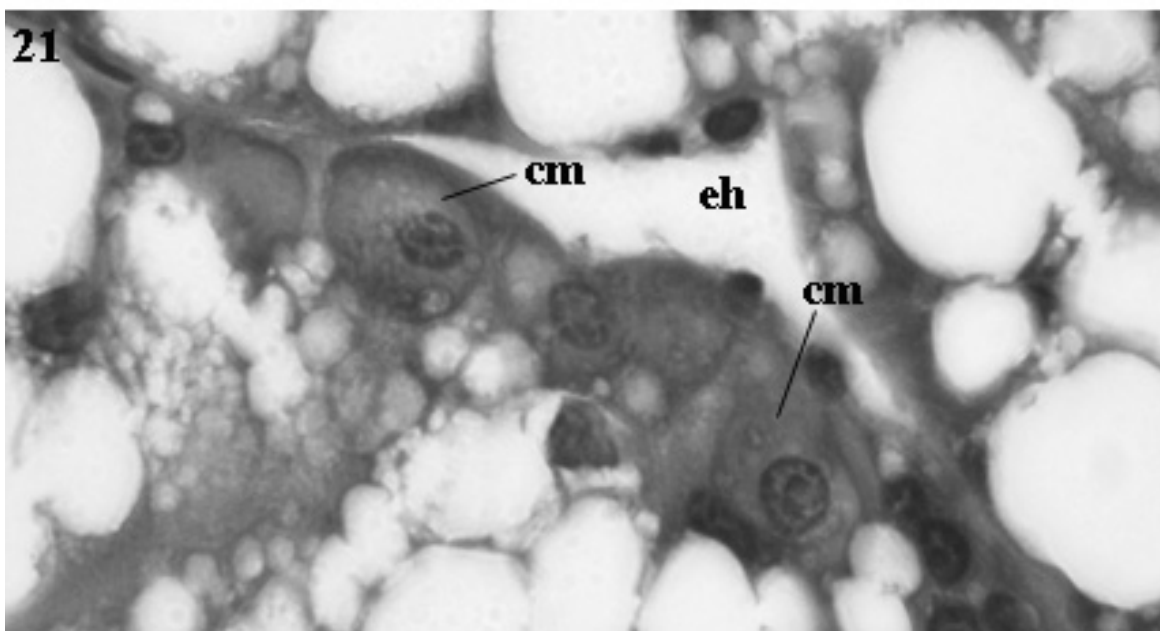
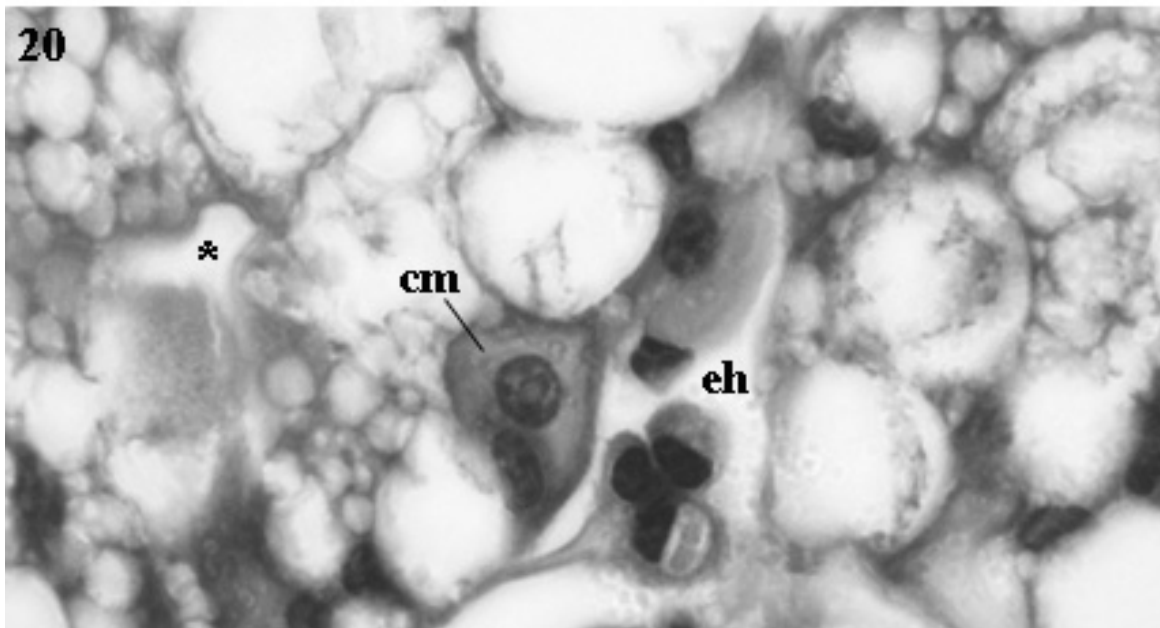
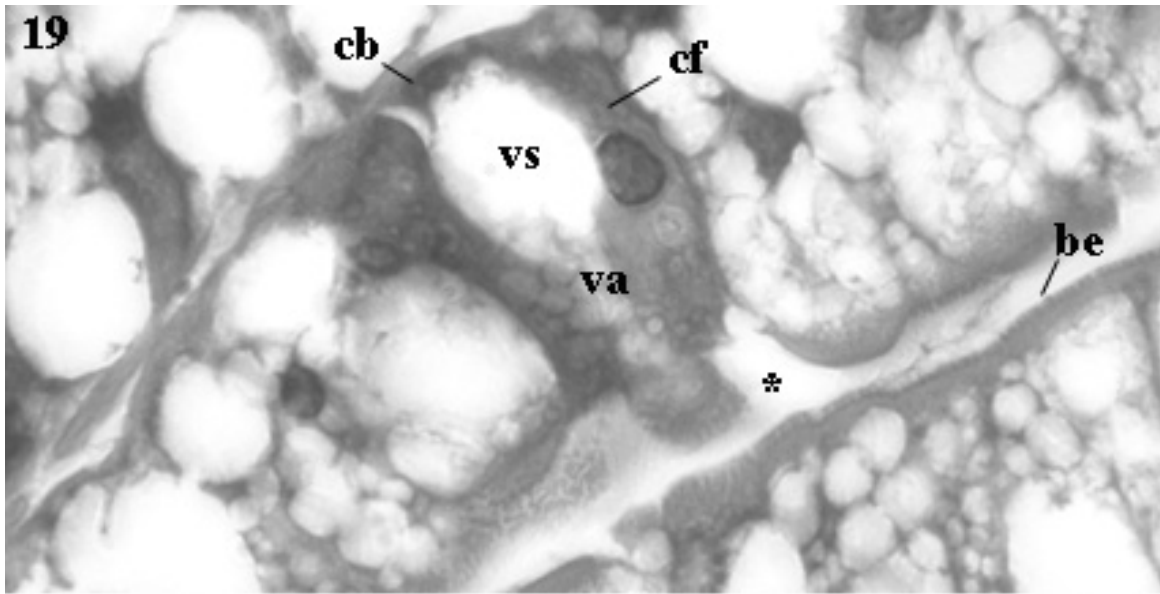












Discussão

O hepatopâncreas é um órgão similar na maioria dos decápodos (Gibson & Barker, 1979), sendo um órgão maciço e compacto. Isso também pôde ser verificado em *Macrobrachium amazonicum*. Além disso, o hepatopâncreas dessa espécie apresentou-se friável, de coloração amarelo-acastanhada e revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo, o que está de acordo com a estrutura proposta para o hepatopâncreas na maioria das espécies de decápodos estudadas (Gibson & Barker, 1979).

Em *M. amazonicum*, o hepatopâncreas apresentou-se dividido em duas metades (lobos): uma direita e uma esquerda, as quais envolvem o tubo digestivo na altura da transição estômago com intestino. Esses dois lobos não apresentam conexão direta entre si, entretanto estão revestidos pela mesma cápsula de tecido conjuntivo, tornando o hepatopâncreas um órgão maciço. Isso confronta com os resultados obtidos por Vogt *et al.* (1989), que realizou estudos sobre o hepatopâncreas de *Astacus astacus*, que apresentou dois lobos dispostos separadamente de cada um dos lados do tubo digestivo sem nenhum tipo de conexão.

Cada um dos lobos do hepatopâncreas de *M. amazonicum* estava subdividido em quatro regiões, sendo estas: região cranial, caudal, dorsal e ventral. A partir

da junção do hepatopâncreas com o estômago identificou-se um grande túbulo principal, sendo um localizado no lobo direito e um no lobo esquerdo do intestino. Deste túbulo principal partem os túbulos secretores secundários que se dirigem em direção a cada uma das regiões do hepatopâncreas. Diferente do que ocorre em *Homarus americanus* (Factor, 1981), onde cada um dos lobos (metades) do hepatopâncreas apresentou-se subdividido em três lóbulos. Em *M. amazonicum* a caracterização do lóbulo hepatopancreático está baseada na descrição do fígado de mamíferos (Junqueira & Carneiro 2004, Geneser, 2003): neste caso cada lóbulo hepático constitui uma unidade morfofuncional do fígado separados por tecido conjuntivo. O lóbulo hepatopancreático em *M. amazonicum* representa uma unidade morfofuncional constituída por túbulo secretor com espaço hemolinfático adjacente. Desta forma o lóbulo hepatopancreático não constitui uma região do órgão, e sim um conjunto de lóbulos hepatopancreáticos define o espaço ocupado por uma região do hepatopâncreas.

Em *M. amazonicum* a denominação "túbulo secretor" ao invés de ducto é baseada nas características morfológicas dos túbulos secretores principais e secundários. Segundo a literatura especializada (Junqueira & Carneiro 2004, Geneser, 2003) uma glândula exócrina possui uma região secretora e outra condutora. A porção secretora difere da porção condutora porque esta última apresenta um epitélio de revestimento e não glandular. No hepatopâncreas *M. amazonicum* não foi possível a localização de uma porção condutora propriamente dita, sendo encontrada células secretoras nas regiões proximal,

medial e distal do túbulo hepatopancreático. O epitélio secretor é constituído por cinco tipos celulares, os quais se diferenciam ao longo do comprimento dos túbulos como o que já foi descrito para os demais decápodos. (Al-Mohanna *et al.*, 1985a; Al-Mohanna & Nott, 1989; Souza & Petriella, 2000; Correa *et al.*, 2002).

As células E foram observadas somente na porção distal de cada túbulo, sendo as células que formam o fundo cego de cada um desses túbulos. Isso está de acordo com o que é descrito para todos os decápodos (Gibson & Barker, 1979).

Já a célula F, foi observada ao longo de todos os túbulos do hepatopâncreas, entretanto é mais facilmente identificada na porção distal, próximas às células E. Al-Mohanna & Nott (1989) observaram as células F presentes apenas nas regiões proximal e medial dos túbulos em *Penaeus semisulcatus*. O mesmo foi relatado por Caceci *et al.* (1988) em *Penaeus vanamei*.

Em *M. amazonicum*, as células B, foram observadas principalmente na região medial e distal dos túbulos, diminuindo sua frequência à medida que o túbulo secretor se aproxima do túbulo principal. Entretanto, Al-Mohanna & Nott (1989) verificaram a presença destas células na região medial-proximal dos túbulos em *Penaeus semisulcatus*.

A célula R foi o tipo celular observado mais abundante nos túbulos hepatopancreáticos de *M. amazonicum*, sendo muito freqüente nas regiões proximal e medial dos túbulos. Em *Penaeus semisulcatus* Al-Mohanna & Nott (1989) observaram a presença de células R ao longo de todo o túbulo, sendo que na região distal estas células apresentaram características de células jovens. À medida que “caminham” na parede do túbulo devido à intensa mitose e diferenciação das células E, vão adquirindo características de células com intensa atividade de absorção, ou seja, células com muitos grânulos no citoplasma. O mesmo foi descrito por Caceci *et al.* (1988) em *Penaeus vanamei*.

O quinto tipo celular, a célula M, foi observado ao longo de todo o túbulo secretor do hepatopâncreas de *M. amazonicum*, sendo que esta apresentou características de células jovens na região distal devido ao fato de serem provenientes da diferenciação das células E, à semelhança do que acontece para as células R, uma vez que a função de célula M está associada a função da célula R. Este tipo celular também foi observado ao longo de todo o túbulo em *Penaeus semisulcatus* (Al-Mohanna *et al.* 1985; Al-Mohanna & Nott, 1987, 1989) e em *Homarus americanus* (Icely & Nott, 1992), mas não foi observado em *Astacus astacus* (Vogt *et al.* 1988) e *Palaemonetes argentinus* (Sousa & Petriella, 2000).

Desta forma a estrutura morfológica de *M. amazonicum* se assemelha ao descrito por diferentes autores (Al-Mohanna *et al.*, 1985; Al-Mohanna & Nott, 1989; Johnston *et al.*, 1998; Souza & Petriella, 2000; Correa *et al.*, 2002) para decápodos. No entanto, algumas características próprias da espécie *M. amazonicum* foram identificadas.

Conclusão

O camarão de água doce *M. amazonicum* apresentou algumas características próprias da espécie quando comparado a outros decápodas:

1) O hepatopâncreas apresentou dois lobos, sendo 1 esquerdo e 1 direito, porém não podem ser visualizados separadamente.

2) A caracterização do lóbulo hepatopancreático identifica a unidade morfofuncional do órgão que está composta pelo túbulo secretor e espaço hemolinfático adjacente.

3) O túbulo secretor ou túbulo hepatopancreático apresenta células secretoras em todo o comprimento tubular, não sendo possível a caracterização de uma porção condutora propriamente dita. Desta forma, o termo ducto não se aplica a essa espécie.

4) O epitélio glandular dos túbulos secretores está constituído por cinco tipos celulares (célula E, -F, -B, -R e -M).

5) Células B merecem destaque uma vez que se apresentam em todo o comprimento do túbulo, porém é mais abundante na região medial e distal do túbulo e diminuem sua frequência em direção à região proximal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Mohanna, S. Y. (1983) The structure and function of *Penaeus semisulcatus* De Hann (Crustacea:Decapoda) during the digestive and moult cycles. Ph.D. thesis, University of Wals, pp. 391. In: Icely, J.D. and Nott, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. Microscopic Anatomy of Intertebrates Volume 10: Decapod Crustacea, p. 147-201, 1992.

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 Intertebrates 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.

Bialetzki, A.; Nakatani, K.; Baumgartner, G. & Bond-Buckup. 1997. 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*, Curitiba, 14 (2): 379-390.

Barker, P. L. and Gibson, R. (1977) Observations on the feeding mechanism, structure of the gut, and digestive physiology of the European lobster *Homarus gammarus* (L.)(Decapoda:Nephopidae). In: Icely, J.D. and Nott, J.A. *Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. Microscopic Anatomy of Intertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

Barker, P. L. and Gibson, R. (1978) Observations on the structure of the mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) (Decapoda:Portunidae). In: Icely, J.D. and Nott, J.A. *Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. Microscopic Anatomy of Intertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

Bridger, C. J. and 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 Ltd., 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.

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.

Dall, W. and Moriarty, D. J. W. (1983) Functional aspects of nutrition and digestion. In: *The biology of Crustacea*, Volume 5, L.H; Mantel (ed). New York: Academic Press, pp. 215-261.

Davant, P. 1963. Clave para la identificación de los camarones marinos y de río con importancia económica en el oriente de Vanezuela. Cumana: Instituto Oceanografico/Universidade de Oriente. 113p.

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. 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 (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2002. Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (obtained by internet, <http://www.fao.org>).

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2004. Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (obtained by internet, <http://www.fao.org>).

Geneser, F., *Histologia*, Editorial Médica Panamericana S.A.C.F. e Ed. Guanabara Koogan, 3^o ed., 2003, 616p.

Gibson, R. and Barker, P. L. (1979) The decapod hepatopancreas. *Oceanographic Marine Biology Annual Revision*, 17:285-346.

Guieysse, A. (1904) Étude du système digestif de la langouste. In: Icely, J.D. and Nott, J.A. *Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. Microscopic Anatomy of Intertebrates Volume 10: Decapod Crustacea*, p. 147-201, 1992.

Gurgel, J. J. S. and Matos, M. O. M. 1984. Sobre a criação extensiva do camarão-canela *M. amazonicum* (HELLER, 1862) nos açudes públicos do Nordeste brasileiro. In: 3^o SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, São Carlos. *Anais...*p.295-311.

Hirsch, G. C. and 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.

Hirsch, G. C. and Jacobs, W. (1930) Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. II. Teil: Wachstum als primärer Faktor des Rhythmus eines polyphasischen organigen Sekretionssystems. *Z. Vergl. Physiol.* 12:524-557.

Hopkin S. P. and Nott J. A. (1979) Some observations on concentrically, intracellular granules in the hepatopancreas of the shore crab *Carcinus maenas* (L.). In: Icery, 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. and 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: Icery, 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.

Hoppe-Seyler, F. (1877) Ueber Unterschiede im chemischen bau und in der verdauung höherer und niederer Tiere. In: Icery, 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 Palemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the America. II The subfamily palemonidae. Occasional Papers, Allan Hancock Foundation, 12: 1-396.

Icery, 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.

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.

Junqueira, L. C.; Carneiro, J.; Histologia Básica, Ed. Guanabara Koogan, 10^o ed., 2004, 488p.

Karnovsky, M. J. A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, v.27, p. 137-152, 1965.

Loizzi, R. F. (1971) Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle networks. 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.

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

Magalhães, C. 1999. Filo Arthropoda, Subfilo Crustacea, Ordem Decapoda 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.), p. 125-134.

Miao, W. and Ge, X. 2002. Freshwater prawn culture in China: an overview. *Aquaculture Asia* 7: 9-12.

Moraes-Riodades, P. M. C. and Valenti, W. C. 2001. Freshwater Prawn Farming in Brazilian Amazonia Shows Potential for Economic and Social Development. *Global Aquaculture Advocate*, Saint Louis, 4 (5): 73-74.

Moraes-Riodades, P. M. C. 2004. Situação atual da criação de *M. amazonicum* no Brasil. In: I CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, Vitória, *Anais...*p. 61

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, AEP-PE, FAEP-BR. p. 598-604

Myrick, C. A. 2002. Ecological impact of escaped organisms. In: TOMASO, J. R. (ed) *Aquaculture and the Environment in the United States*. Baton Rouge, U.S. Aquaculture Society, A Chapter of the World Aquaculture Society, p. 225-246.

New, M. B. 1995. Status of freshwater prawn farming: a review. *Aquaculture Research*, Oxford, 26 (1): 1-54.

New, M. B. 2000. History and global status of freshwater prawn farming. In: New, M. B. and Valenti, W. C. (ed.) *Freshwater Prawn Farming: The Farming of *M. rosenbergii**. Londres, Blackwells. p. 1-11

New, M. B.; D'Abramo, L. R.; Valenti, W. C. and Singholka, S. 2000. Sustainability of freshwater prawn culture. In: New, M. B. and Valenti, W. C. (ed.) *Freshwater Prawn Farming: The Farming of *M. rosenbergii**. Londres, Blackwells. p. 429-443.

Odinetz-Collart, O. e Moreira, L. C. 1993. Potencial pesqueiro do camarão *M. amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro). Amazoniana, Manaus, 12(3/4): 399-413.

Odinetz-Collart, O. 1987. La pêche crevettière de *M. amazonicum* (Palemonidae) dans le Bas-Tocantins après la fermeture du barrage de Tucuruí. Rev. Hydrobiol.Trop. 20(2):131-144.

Ogura, K. (1959) Midgut gland cells accumulations iron or copper in the crayfish *Procambarus clarkii*. 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.

Papathanassiou, E. and King, P.E. (1984) Effects of starvation on the fine structure of the hepatopancreas in the common prawn *Palaemon serratus* (Pennant). *Compendium of Biochemistry and Physiology*, 77A:243-249.

Pillai, R. S. (1960) Studies on the shrimp *Caridina laevis* (Heller). 1. The digestive system. 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.

Sousa, L. G.; Petriella, A. M. (2000) Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea), 24(3): 189-195.

Storch, V. and Welsch, U. (1977) Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische untersuchungen den Mitteleidarmdrüse der landlebenden Decapoden *Coenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*. 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.

Storch, V. and Anger, K. (1983) Influence of starvation and feeding on the hepatopancreas of larval *Hyas araneus* (Decapoda:Majidae). 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.

Storch, V.; Janssen, H.H.; Cases, E. (1982) the effects of starvation on the hepatopancreas of the coconut crab *Birgus latro* (Crustacea: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.

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

Valenti, W. C. 1993. Freshwater prawn culture in Brazil. World Aquaculture, Baton Rouge, 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, Recife, ABRAQ, *Anais*. p. 199-206.

Valenti, W. C. 2002. Situação atual, perspectivas e novas tecnologias para a produção de camarões de água doce. In: XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, Goiânia. *Anais*. Goiânia. Associação Brasileira de Aqüicultura. p. 99-106

Valenti, W. C. 2004. Carcinicultura de água doce como agronegócio. In: I CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, Vitória, *Anais*. p. 52.

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, na cidade Salvador, Bahia, *Anais*. p.804.

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. (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.; Stocker, W.; Quintio, E.T.; Pascual, F.P. (1985) Midgut gland as monitor organ for nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). *Aquaculture*, 48:1-12.

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