

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DO FÍGADO E DO PÂNCREAS DAS LARVAS DE *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836) (CHARACIFORMES, PROCHILODONTIDAE)¹

Rosania Gomes do Nascimento^{2,3}, Cláudia Maria Reis Raposo Maciel⁴, Alaor Maciel Júnior⁴, Poleane do Nascimento Santos³, Eduardo Arruda Teixeira Lanna⁵

1 Projeto financiado pela UESB/Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

2 Bolsista de Iniciação Científica da UESB (rosaraime@hotmail.com)

3 Discente do curso de Ciências Biológicas da UESB.

4 Professor Titular da UESB, Laboratório de Biologia.

5 Professor Titular da UFV, Viçosa – MG.

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Itapetinga – BA, Brasil

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

A histologia do fígado e do pâncreas de peixes permite inferir a respeito da funcionalidade do tubo digestivo durante a fase absorptiva das larvas. Objetivou-se verificar o surgimento e desenvolvimento inicial de estruturas anexas ao tubo digestório, fígado e pâncreas, das larvas de *Prochilodus lineatus*, de zero até 148 horas após a eclosão. Os exemplares coletados foram fixados em solução de Bouin e submetidos ao processamento histológico de rotina para inclusão em parafina e coloração HE. Nas larvas de curimba, o fígado surgiu dorsalmente ao saco vitelino e ventralmente ao tubo digestivo em desenvolvimento. Às 25 horas após eclosão, o parênquima hepático era formado por hepatócitos poliédricos. Com 30 horas após a eclosão, as células pancreáticas encontravam-se estruturadas em ácinos arredondados. Às 56 horas após a eclosão foi possível visualizar o pâncreas endócrino e começou a se diferenciar do exócrino e iniciou-se a formação das ilhotas de Langerhans. Pode-se concluir que, a partir de 30 horas após a eclosão, o fígado e pâncreas das larvas de curimba tornaram-se funcionais podendo atuar no processo digestivo do alimento.

PALAVRAS-CHAVE: Curimba, desenvolvimento, glândulas anexas, histologia, sistema digestório

HISTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LIVER AND PANCREAS OF *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836) (CHARACIFORMES, PROCHILODONTIDAE) LARVAE

ABSTRACT

The histology of liver and pancreas of fish allows inference concerning the functionality of the digestive tract during the absorptive larvae. This study aimed to verify the onset and early development of structures attached to the digestive tract, liver and pancreas, of *Prochilodus lineatus* larvae, from zero to 148 hours after hatching. The collected specimens were fixed in Bouin's solution and submitted to the histological processing for paraffin embedding and HE staining. In larvae of

curimba, the liver arose dorsally to the yolk sac and ventrally to the digestive tract, in development. At 25 hours after hatching, the hepatic parenchyma was formed by polyhedral hepatocytes. 30 hours after hatching, the pancreatic cells were organized into acini rounded. At 56 hours after hatching was possible to visualize the endocrine pancreas and began to differentiate from the exocrine and the formation of the islets of Langerhans was initiated. It can be concluded that, from 30 hours after hatching, liver and pancreas of curimba larvae became functional allowing operate in digestive food process.

KEYWORDS: Curimba, development, attached glands, histology, digestory system

INTRODUÇÃO

O fígado e o pâncreas de peixes diferenciam-se cedo e apresentam-se funcionais antes do término da absorção do vitelo (MACIEL, 2006). A histologia destes órgãos permite inferir a respeito da funcionalidade do trato digestório durante a fase absorptiva do desenvolvimento inicial das larvas (GOVONI, 1980).

O fígado dos Teleostei é um órgão compacto e localiza-se ventralmente na cavidade celomática, sendo que suas características morfológicas relacionadas ao tamanho e à forma variam entre as espécies e adaptam-se ao espaço utilizado pelos órgãos viscerais (COSTA et al., 2012). É um órgão multifuncional responsável pela conversão do alimento, produção da vitelogenina, durante o crescimento gonadal, e desintoxicação de compostos estranhos (STEGEMAN & LECH, 1991; FLORES-LOPES & MALABARBA, 2007), além de adaptar as substâncias nutritivas, reabsorvidas pelo organismo, às necessidades do corpo, e assim, colaborando com o metabolismo do animal (LEMES & BRACCINI, 2004) e a produção de anticorpos durante o período larval dos peixes. Frequentemente, o fígado é utilizado como indicador de poluição aquática em estudos ambientais (FLORES-LOPES & MALABARBA, 2007; GONÇALVES et al., 2012).

Embriologicamente, o fígado desenvolve-se a partir do divertículo hepático, derivado da endoderme (GILBERT, 1991) e se expande rapidamente, envolvendo parcialmente o tubo digestivo, onde predomina na porção ventral (GOVONI, 1980).

Apesar da fisiologia e a histologia do fígado serem similares nos Vertebrata, FERGUSON (1989) afirmou que existem diferenças estruturais no parênquima hepático de peixes, como ausência de lobulação e de sistemas porta clássicos, presença de tecido pancreático intra-hepático ao redor dos vasos em algumas espécies, ausência de um sistema de células de Kupfer, presença de centros melanomacrofágicos (CMMs) e de tecido hematopoiético. Há também diferenças relevantes na mesma família, sendo que não é possível descrever a arquitetura do fígado de Teleostei de modo generalizado (FLORES-LOPES & MALABARBA, 2007).

O pâncreas é uma glândula mista, com funções endócrinas e exócrinas, variando amplamente quanto ao desenvolvimento e localização anatômica, nos diferentes grupos de peixes (DIAZ et al., 1999; GONÇALVES et al., 2012). Em algumas espécies, o pâncreas pode ser definido como um órgão compacto, no entanto, na maioria dos Teleostei, o pâncreas exócrino é geralmente difuso, e consiste de túbulos ramificados ou ácinos dispersos no tecido conjuntivo da serosa intestinal, mesentério ou dentro do fígado, formando o hepatopâncreas, ou no baço e na vesícula biliar. Entretanto em algumas espécies, o pâncreas apresenta uma porção compacta e outra difusa (HINTON & POOL, 1979; MACIEL, 2006). A porção endócrina do pâncreas é representada pelas ilhotas de Langerhans, que são

reconhecidas na parte anterior do parênquima pancreático, as células encontram-se bem diferenciadas da parte exócrina (GONZÁLEZ et al., 2002).

Nos vertebrados, o pâncreas produz dois tipos de substâncias que desempenham funções fisiológicas diferentes na digestão (células exócrina) e na homeostase da glicose (células endócrinas). As enzimas digestivas, produzidas pelos ácinos pancreáticos, são liberadas no intestino médio onde se tornam ativas, e hormônios insulina, glucagon, somatostatina e peptídeo YY, produzidos pelas ilhotas de Langerhans, são secretados na corrente sanguínea (LEMES & BRACCINI, 2004; CARUSO & SHERIDAN, 2011).

Os peixes da família Prochilodontidae têm distribuição limitada à América do Sul, ocorrendo no lado noroeste dos Andes até o sudoeste do Equador. Ao leste dos Andes são encontrados nas bacias dos rios Orenoco, Amazonas, Tocantins, São Francisco e Prata, nos rios costeiros das Guianas e do leste e sudeste do Brasil. *Prochilodus* é o único gênero desta família que pode ser encontrado na Mata Atlântica (MENEZES et al., 2007).

A espécie *Prochilodus lineatus*, popularmente chamada de curimba, curimatã, grumicha ou grumatã, apresenta ampla proliferação e desenvolvimento rápido, o que proporciona uma rusticidade característica que contribui para que seja utilizada como alimento para espécies predadoras (PEREIRA et al., 2009). É conhecida por realizar longas migrações rio acima na época da desova nas bacias dos rios Paraná e Paraguai (MENEZES et al., 2007).

Objetivou-se, com o presente trabalho, verificar histologicamente o surgimento e desenvolvimento inicial de estruturas anexas ao tubo digestório, fígado e pâncreas, das larvas de *Prochilodus lineatus*, de zero até 148 horas após a eclosão.

MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de curimba, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiformes, Prochilodontidae) utilizadas, oriundas da Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental da Usina Hidrelétrica de Volta Grande, CEMIG, em Conceição das Alagoas, MG, encontravam-se depositadas no Laboratório de Biologia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em Itapetinga, BA.

Foram coletados 30 exemplares a cada meia hora, da eclosão a 148 horas, insensibilizados por hipotermia (conforme Resolução nº 714, de 20/07/2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária) e fixados em solução de Bouin, por seis horas (MACIEL, 2006). Após este período, os exemplares foram transferidos para solução de álcool 70% e acondicionados em frascos de vidro devidamente etiquetados.

Os exemplares foram submetidos às técnicas de rotina de desidratação em álcool etílico para impregnação e inclusão em parafina. Os cortes, com espessura de seis ou sete micrômetros foram feitos em micrótomo rotativo. As lâminas histológicas foram montadas e coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (HE) e preparadas segundo BANCROFT & STEVENS (1996), no Laboratório de Biologia Estrutural, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Os estudos histológicos foram realizados no Laboratório de Biologia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em Itapetinga, BA, com a utilização de um microscópio de luz, acoplado a um computador contendo um software de análise de imagens, e foram fotomicrografados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas larvas recém-eclodidas de curimba (*Prochilodus lineatus*) até 24 horas após a eclosão, as glândulas anexas ao tubo digestivo, fígado e pâncreas, não estavam diferenciados. Nos exemplares com 25 horas após a eclosão, foram detectados primórdios de fígado, como um tecido constituído de hepatócitos irregulares, com núcleo central e reduzido, localizado dorsalmente ao saco vitelino e ventralmente ao tubo digestivo (Figura 1). Conforme HIBIYA (1982), este primórdio do fígado é composto por pequenas células parenquimatosas (hepatócitos ou células hepáticas) e fibras reticulares, cuja função é sustentar o órgão.

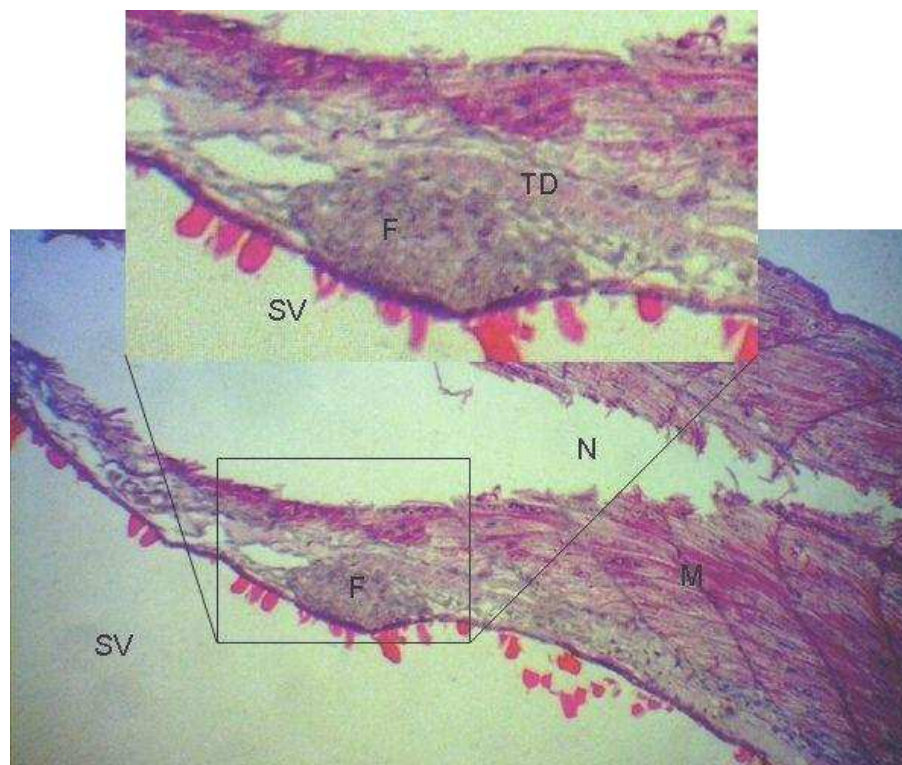


FIGURA 1. Primórdios de fígado das larvas de *Prochilodus lineatus*, com 25 horas após eclosão. HE.

F- fígado; M- musculatura; N- notocorda; SV- saco vitelino; TD- tubo digestivo.

Fonte: Autores.

As células hepáticas ou hepatócitos continuaram a desenvolver juntamente com o desenvolvimento das larvas de curimba (*P. lineatus*), entretanto não havia evidências de acúmulo de glicogênio. Às 33 horas após a eclosão, os hepatócitos se organizaram em lâminas ao redor de sinusóides hepáticos que se encontravam intimamente ligados ao intestino. O ducto biliar era revestido por epitélio simples cúbico e veias e artérias também estavam presentes.

MACIEL (2006) relatou que alguns autores verificaram que os hepatócitos possuem atividade de armazenar glicogênio na fase larval e que este fato indica o início da funcionalidade dos hepatócitos que permanecem ao longo dos estágios larvais e juvenis.

À medida que se seguia o desenvolvimento das larvas de curimba (*P. lineatus*), o fígado aumentava de volume de forma gradativa, envolvendo

parcialmente o intestino (Figura 2). Os hepatócitos encontravam-se maiores e tomavam uma forma mais regular, citoplasma claro e o seu núcleo arredondado e central e em algumas regiões deslocado para a periferia da célula. Estas descrições morfológicas estão de acordo com FUJIMOTO et al., (2008) para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

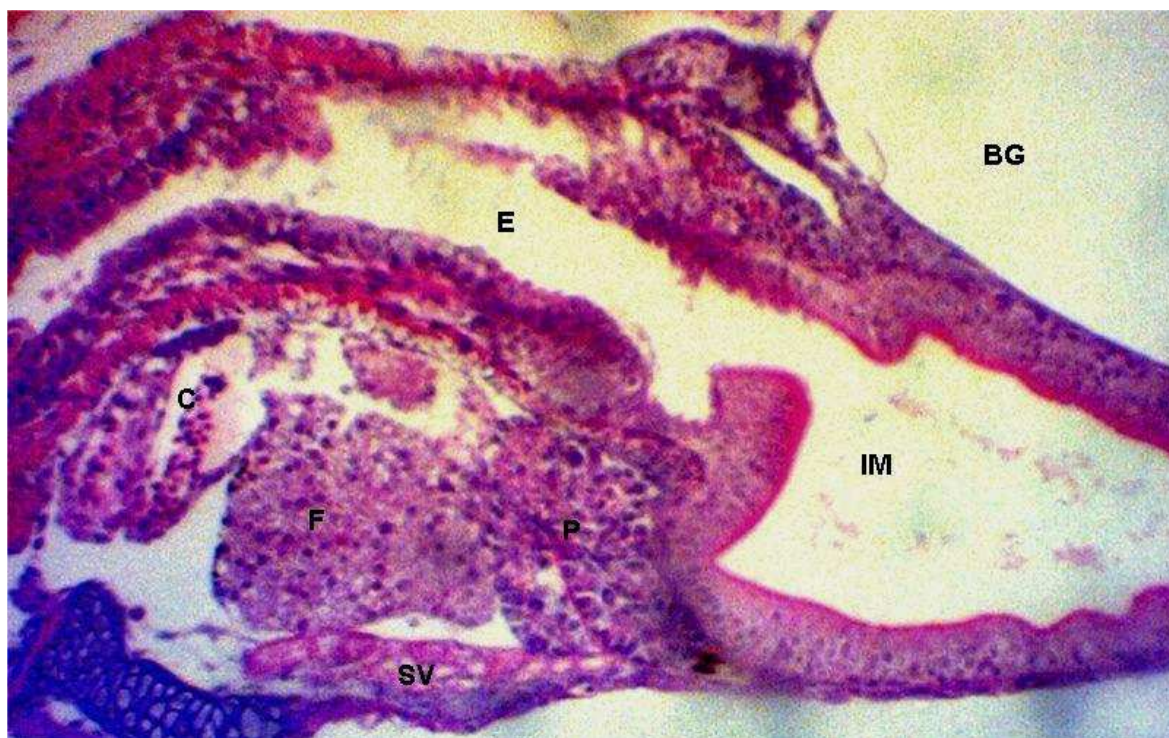


FIGURA 2. Tronco das larvas de *Prochilodus lineatus*, com 30 horas após eclosão. HE.

BG- bexiga gasosa; C- coração; E- esôfago; F- fígado; IM- intestino médio; P- pâncreas; SV- saco vitelino.

Fonte: Autores.

Segundo HIBIYA (1982), o tamanho das células hepáticas em preparações microscópicas reflete o seu estado fisiológico funcional, e é visivelmente diferente nos estados de hiper e hipofuncionalidade. Este autor exemplificou que a hipertrofia do corpo celular, núcleo e nucléolo dos hepatócitos podiam ser observados no período mais ativo da vitelogênese em ayu (*P. altivelis*) e em fêmeas de *Onchorhynchus masou*. O aumento e a diferenciação das células hepáticas também foram evidenciados nas larvas de *Prochilodus lineatus* (Figura 3).

O citoplasma das células hepáticas pode apresentar aspectos variáveis, dependendo do estado nutricional do indivíduo, ou seja, quando este se encontra bem alimentado, os hepatócitos armazenam quantidades significativas de glicogênio e processam grande quantidade de lipídios. Entretanto, durante a preparação histológica, ambos os metabólitos são parcialmente removidos, sendo necessários métodos específicos que preservem a integridade de inclusões intracitoplasmáticas (lipídios, glicogênio, etc.) (SANTOS et al., 2004; YANG et al., 2010).

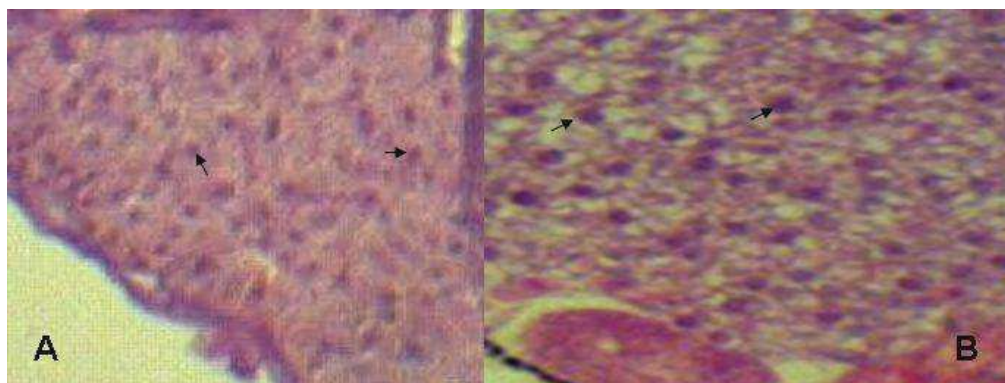


FIGURA 3. Fígados das larvas de *Prochilodus lineatus*. HE. A) Fígado imaturo; B) Fígado maduro, evidenciando numerosos vacúolos. Setas: Núcleos de hepatócitos.

Fonte: Autores.

Nos exemplares de *P. lineatus*, às 148 horas após a eclosão, o fígado ocupava grande parte da cavidade peritoneal.

Os centros melanomacrófagos (CMMs) não foram evidenciados nos fígados das larvas de *P. lineatus* do presente estudo. Foi relatado que as variações do tamanho e do número de CMMs podem estar relacionadas com a idade, o estado nutricional, a doença e as condições ambientais. O pigmento melanina pode ter um efeito protetor contra os poluentes, e níveis elevados de melanina e lipofuscina podem proteger contra danos celulares, pois absorvem radicais livres (HARTLEY et al., 1996).

O fato de ainda não se ter sido verificado os CMMs nas larvas de curimba (*P. lineatus*) sugere que o mecanismo de defesa dessas larvas ainda está em desenvolvimento, o que as tornam vulneráveis, podendo até comprometer a sobrevivência das mesmas (ROCHA et al., 2010).

Conforme GONÇALVES et al. (2012), o fígado de peixes está posicionado na cavidade peritoneal, na altura do estômago, sendo que, em algumas espécies, pode se estender ao longo do abdômen. Pode estar disposto em dois ou mais lóbulos distintos ou ainda como um órgão único (RUST, 2002), sendo mais comum a presença de três lóbulos hepáticos, um central, um direito e outro esquerdo, como observado em traíra (*Hoplias malabaricus*) (LEMES & BRACCINI, 2004), piaçu (*Leporinus macrocephalus*) (BOMBONATO et al., 2007), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (COSTA, 2007) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) (COSTA et al., 2012). Já em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (VICENTINE et al., 2005) e bagre africano (*Clarias gariepinus*) (PALHARES, 2004), o fígado possui apenas dois lóbulos, sendo o esquerdo mais desenvolvido. Esta divisão em lobos ainda não se verificou nas larvas de grumecha (*Prochilodus lineatus*) até 148 horas após eclosão.

O fígado é um órgão simples em muitos Osteichthyes, mas em alguns as células do tecido pancreático invadem o fígado ao longo do desenvolvimento do peixe. A combinação dos tecidos do fígado e do pâncreas é denominada hepatopâncreas (HIBIYA, 1982). As células pancreáticas também podem migrar para os tecidos entéricos. Este fato não foi observado nas larvas de *Prochilodus lineatus* até as 148 horas após a eclosão.

O pâncreas das larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*) era extra-hepático, como descrito em piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) por MACIEL (2006). Nos exemplares com 30 horas após a eclosão, as células pancreáticas encontravam-se

estruturadas em ácinos arredondados (Figura 2). Às 56 horas após a eclosão foi possível visualizar que o pâncreas endócrino começou a se diferenciar do exócrino tendo início a formação das ilhotas de Langerhans.

De acordo com GONZÁLEZ et al. (2002) e MACIEL (2006), a presença das ilhotas pancreáticas indica que as larvas podem assimilar açúcares de modo eficiente.

Com o desenvolvimento das larvas de *Prochilodus lineatus*, o pâncreas moveu dorsalmente e começou a envolver a região anterior do intestino médio (Figura 4).



FIGURA 4. Corte histológico de *Prochilodus lineatus* com 68 horas após eclosão. HE.

DC- ducto colédoco; DP- ducto pancreático; IM- intestino médio; PEx- pâncreas exócrino.

Fonte: Autores.

O pâncreas exócrino era constituído de aglomerados de células piramidais organizadas em ácinos (Figura 4). As células acinares possuem citoplasmas escuro basófilo, núcleo basal distinto, muitos grânulos de zimogênio eosinófilos, responsáveis pela produção, armazenamento e secreção das enzimas digestivas (tripsina, quimiotripsina, carboxipolipeptidase, elastase, collagenase, amilases, lipases, fosfolipase A2 e quitinases) e bicarbonato, que neutraliza o pH ácido do quimo proveniente do estômago (BALDISSEROTO, 2009 e GONÇALVES et al., 2012).

Para MACIEL (2006), o desenvolvimento das glândulas anexas, fígado e pâncreas, é particularmente importante para a digestão em larvas de peixes, uma vez que estas ainda não possuem um estômago estruturado e funcional. Assim, a determinação do momento da primeira alimentação exógena é importante, pois se o alimento for oferecido precocemente, aumentará o desperdício, e se for tardio, poderá comprometer o crescimento e a sobrevivência das larvas (MACIEL et al., 2010), tornando-se, em ambos os casos, antieconômico e potencialmente danoso ao ambiente.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento do fígado e pâncreas nas larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*) é de extrema importância, pois, a partir de 30 horas após a eclosão, estes órgãos tornam-se funcionais podendo atuar na digestão dos alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de iniciação científica; à Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Volta Grande – EPDA-VG/ CEMIG pela doação do material biológico e ao Laboratório de Biologia Estrutural da Universidade Federal de Viçosa pela confecção das lâminas histológicas.

REFERÊNCIAS

- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2 ed., 2009. 350p.
- BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and practices of histological techniques**. Churchill Livingstone, 4. ed., 1996. 166p.
- BOMBONATO, M. T. S.; ROCHEL, S. S.; VICENTINI, C. A.; VICENTINI, I. B.F. Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum – Biological Science**, 29: 81-85.
- CARUSO, M. A.; SHERIDAN, M. A. Pancreas. p.1276-1283. In: FARRELL, A. P. **Gas exchange, internal homeostasis, and food uptake**. Fish Physiology: Academic Press, 2011.
- COSTA, G. M. **Estudo histomorfológico e análise dos perfis celulares do rim cefálico, fígado, baço e timo do *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887, Teleósteo, Characidae), pacu**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil. 2007.
- COSTA, G. M.; ORTIS, R. C.; LIMA, M. G.; CASALS J.B.; Lima A. R.; KFOURY J.R. 2012 Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(9): 947-950 2012.
- DÍAZ, A. O.; GONZÁLEZ CASTRO, M.; GARCÍA, A. M.; DEVINCENTI, C. V.; GOLDEMBERG, A. L 1999. Caracterização morfológica e histoquímica do fígado de weakfish despojado, *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830). **Biociencias** 7 (1) :67-78.
- FERGUSON, H. W. **Systematic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts**. Iowa: Iowa State University Press, 1989. 263p.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas observadas no fígado de lambari *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Teleostei, Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. **Biociências**, 15(2): 166-172, 2007.

FUJIMOTO, R. Y.; CRUZ, C.; MORAES, F. R. Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. **Boletim do Instituto de Pesca**, 34(1): 117-124 2008.

GILBERT, S. F. **Biologia do Desenvolvimento**. 3 ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 1991. 563p.

GONÇALVES, L.U.; RODRIGUES, A.P. O.; MORO, G. V.; CARGNIN-FERREIRA, E. CYRINO, J. E. P. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. P.9-36. In: FRACALOSS, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, 2012.

GONZÁLEZ, O. R. M.; FLORES, J. C. B.; DOMINGUEZ, B. M. p.; VALLE, M. R. G. 2002 .Descripción histológica Del sistema digestivo en larvas de *Chirostoma humboldtianum* en la primera alimentación exógena. In: **CIVA 2002** (<http://civa2002.org>); p.313-322, 2002.

GOVONI, J. J. Morphological, histological and functional aspects of alimentary canal and associated organ development in larval *Leiostomus xanthurus*. **Rev. Can. Biol.**, 39(2): 69-80, 1980.

HARTLEY, W. R.; THIYAGARAJAH, A.; TREINIES, A. M. Liver lesions in the Gar Fish (Lepisosteidae) as biomarkers of exposure. **Marine Environmental Research**, 42(1-4): 217-221, 1996.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology: Normal e pathological features**. New York: Gustav Fischer Verlag, 1982. 149p.

HINTON, D. E.; POOL, C. R. Ultrastructure of the liver in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; BRETT, J.R. **Fish Physiology: Bioenergetics and Growth**, V.VIII. San Diego: Academic Press, p.71-113, 162-241, 1979.

LEMES, A. S.; BRACCINI, M.D. C. Descrição e análise histological das glândulas anexas do trato digestório de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794), (Teleostei, Erythrinidae). **Biodiversidade Pampeana**, 2: 33-41, 2004.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes (1849) (Characiformes, Characidae, Bryconinae)**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 229p. 2006.

MACIEL, C. M. R. R.; LANNA, E. A. T.; MACIEL JUNIOR, A.; DONZELE, J. L.; NEVES, C. A.; MENIN, E. Morphological and behavioral development of the piracanjuba larvae. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39(5): 961-970 2010.

MENEZES, N. A.; WEITZMAN, S. H.; OYAKAWA, O. T.; LIMA, F. C. T.; CASTRO, R. M. C.; WEITZMAN, M. J. 2007. **Peixes de água doce da Mata Atlântica. Lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce Neotropical**. São Paulo: Museu de Zoologia, 408p.

PALHARES, G. L. **Sistema porta hepático do bagre africano *Clarias gariepinus* Burchell, 1822 (Clariidae, Siluriformes, Ostariophysii)**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil. 2004.

PEREIRA, G. J. M.; MURGAS, L. D. S.; SILVA, J. M. A.; MILIORINI, A. B.; LOGATO, P. V. R.; LIMA, D. Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando eCG e EBHC1. **Revista Ceres**, 56(2): 156-160, 2009.

ROCHA, R. M.; COELHO, R. P.; MONTES C. S.; SANTOS, S. S. D.; FERREIRA, M. A. P. Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) da baía do Guajará, Belém, Pará. **Ciência Animal Brasileira**, 11(1): 101-109 2010.

RUST, M. B. Nutritional Physiology. p.367-505. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.) **Fish Nutrition**. San Diego: Academic Press. 2002.

SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; RODRIGUES, E. L. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, 30(2): 141-145, 2004.

STEGEMAN, J. J.; LECH, J. J. Cytochrom p-450 monoxygenase systems in aquatic species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. **Environ. Health Persp.**, 90: 93-100, 1991.

VICENTINE, C. A.; FRANCESCHINI-VICENTINE, I. B.; BOMBONATO, M. T. S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S. G.; SANTOS, A. S. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, 23: 211-216, 2005.

YANG, R.; XIE, C.; FAN, Q. ; GAO, C. ; FANG, L. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. **Aquaculture**, 302: 112-123, 2010.