

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados

Ana Paula Gorle de Miranda Chaves

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS INTESTINOS DELGADO E GROSSO DO ACARÁ
Geophagus brasiliensis (QUOY & GAIMARD, 1824) (PISCES: CICHLIDAE).**

Belo Horizonte

2021

Ana Paula Gorle de Miranda Chaves

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS INTESTINOS DELGADO E GROSSO DO ACARÁ
Geophagus brasiliensis (QUOY & GAIMARD, 1824) (PISCES: CICHLIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Vertebrados.

Orientador: Prof. Dr. José Enemir dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Nilo Bazzoli

Área de concentração: Biologia de Vertebrados

Belo Horizonte

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

C512a Chaves, Ana Paula Gorle de Miranda
Análise comparativa dos intestinos delgado e grosso do acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Cichlidae) / Ana Paula Gorle de Miranda Chaves. Belo Horizonte, 2021.
37 f. : il.

Orientador: José Enemir dos Santos
Coorientador: Nilo Bazzoli
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados

1. Acará (Peixe). 2. Peixes de água doce. 3. Peixes - Aparelho digestivo. 4. Peixes - Anatomia. 5. Células caliciformes. 6. Enterócitos. 7. Linfócitos. I. Santos, José Enemir dos. II. Bazzoli, Nilo. III. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados. IV. Título.

SIB PUC MINAS

CDU: 597

Ana Paula Gorle de Miranda Chaves

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS INTESTINOS DELGADO E GROSSO DO ACARÁ
Geophagus brasiliensis (QUOY & GAIMARD, 1824) (PISCES: CICHLIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Vertebrados.

Área de concentração: Biologia de Vertebrados

Prof. Dr. José Enemir dos Santos – PUC Minas (Orientador)

Prof. Dr. Nilo Bazzoli – PUC Minas (Coorientador)

Prof. Dr. Marcelo Fulgêncio Guedes de Brito – UFS (Banca Examinadora)

Prof. Dr. Lucas Marcon – FUMEC (Banca Examinadora)

Belo Horizonte, 25 de março de 2021.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, desenvolvida sob orientação do professor Dr. José Enemir dos Santos, coorientação do professor Dr. Nilo Bazzoli e com o apoio das seguintes instituições:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
- Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG);

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente à Deus por me permitir viver uma experiência tão gratificante e intensa;
- Aos meus queridos orientadores Enemir e Nilo pela oportunidade, confiança e paciência durante a orientação deste estudo;
- Aos membros da banca por aceitarem o convite e pelas críticas e sugestões que foram dadas;
- Aos meus pais Soraya e Francisco e meu irmão André pelo amor incondicional, paciência e dedicação;
- Aos amigos irmãos que estiveram ao meu lado com muito amor, companheirismo, amizade e paciência: Marina Silvestrini, Hugo Martins, Anna Guimarães, Laura Macedo, Ana Luísa Frois e André Santana;
- Aos colegas do Programa de Pós-Graduação pela convivência diária e por compartilharem tantas experiências durante os dois anos de mestrado;
- Ao Rogério por tanta dedicação, suporte, amizade e principalmente paciência durante os quatro anos que estivemos juntos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
OBJETIVOS	22
<i>Objetivo geral</i>	22
<i>Objetivos específicos</i>	22
ARTIGO A SER SUBMETIDO	23
<i>Resumo</i>	23
<i>Abstract</i>	24
<i>Introdução</i>	25
<i>Material e métodos</i>	27
<i>Resultados</i>	28
<i>Discussão</i>	32
<i>Conclusão</i>	33
<i>Referências bibliográficas</i>	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplar de *Geophagus brasiliensis*

Figura 2: Secções transversais do intestino delgado do *Geophagus brasiliensis*

Figura 3: Secções transversais do intestino grosso do *Geophagus brasiliensis*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reações histoquímicas nas células caliciformes, enterócitos e membrana basal no intestino delgado e intestino grosso de *G. brasiliensis*.

RESUMO

Geophagus brasiliensis conhecido popularmente como acará, é um peixe de água doce comum em ambientes lânticos da América do Sul, pertencente à ordem Cichliformes e à família Cichlidae. O acará possui hábito alimentar detritívoro-iliófago ou onívoro, com alta plasticidade alimentar. O intestino é um órgão geralmente tubular, no qual transita o alimento, ocorre a digestão alcalina, absorção de nutrientes e ainda possui função imunológica. A anatomia do trato gastrointestinal dos peixes possui um grau de variação refletida na filogenia e ontogênese, tipo de dieta e disponibilidade de recursos. Estudos morfológicos são ferramentas eficazes para a caracterização do trato digestivo, facilitando o entendimento quanto à fisiologia, hábitos alimentares, manejo e nutrição das espécies de peixes. O presente estudo tem como objetivo analisar por meio de técnicas histológicas e histoquímicas os intestinos do acará. Os peixes foram coletados no lago da PUC Minas *campus* Coração Eucarístico (19-20° S, 43-44° W) nos meses de outubro a dezembro de 2019, utilizando tarrafa de malha com 3,0 cm entre nós opostos. Os exemplares foram submetidos à biometria e dissecação para a retirada de fragmentos dos intestinos delgado e grosso. As amostras foram fixadas em líquido de Bouin por 12h e submetidas às técnicas histológicas de rotina: inclusão em parafina, microtomia com 5 µm de espessura, coloração com hematoxilina-eosina (HE), Tricrômico de Gomori (TG) e técnicas histoquímicas clássicas para detecção de carboidratos: Periodic-Acid-Schiff (PAS) e Alcian blue (AB) pH 2,5 e 0,5 e para detecção de lípidos: Sudan black B (SB). Histologicamente os intestinos delgado e grosso apresentaram-se organizados em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. O intestino delgado caracterizou-se pela presença de vilosidades intestinais revestidas por epitélio simples prismático com borda estriada e células caliciformes apoiado na lâmina própria conjuntiva. No intestino grosso observou-se ausência de vilosidades e abundância de células caliciformes. As reações PAS+ e AB pH 2,5+ nas células caliciformes indicaram presença de mucosubstâncias, importantes para a lubrificação do trato intestinal para a passagem do bolo fecal. Não foram detectados lípidos nos intestinos *G. brasiliensis* devido à reação negativa a técnica do Sudan Black B. Os resultados do presente estudo fornecem subsídios para a conservação da espécie e aplicação em estudos filogenéticos.

Palavras chave: células caliciformes. Mucosubstâncias. Enterócitos. Linfócitos.

ABSTRACT

Geophagus brasiliensis popularly known as acar, is a freshwater fish common in lentic environments in South America, belonging to the order Cichliformes and the family Cichlidae. The acar has a detritivorous-iliophage or omnivorous feeding habit, with high food plasticity. The intestine is a generally tubular organ, in which food transits, alkaline digestion occurs, nutrient absorption and also has an immunological function. The anatomy of the gastrointestinal tract of fish has a degree of variation reflected in phylogenesis and ontogenesis, food and the environment. Morphological studies are effective tools for the characterization of the digestive tract, facilitating the understanding of the physiology, eating habits, management and nutrition of fish species. The present study aims to analyze by means of histological and histochemical techniques the intestines of the acar. The fish were collected in the PUC Minas *campus* Coração Eucarístico (19-20 S, 43-44 W) in the months of October to December 2019, using a 3.0 cm mesh net between opposite nodes. The specimens were submitted to biometry and dissection to remove fragments of the small and large intestines. The samples were fixed in Bouin liquid for 12h and subjected to routine histological techniques: inclusion in paraffin, 5 m thick microtomy, Hematoxylin-eosin staining (HE), Gomori trichrome (TG) and classic histochemical techniques for detection of carbohydrates: Periodic-Acid-Schiff (PAS) and Alcian blue (AB) pH 2.5 and 0.5 and for lipid detection: Sudanblack B (SB). Histologically, the small and large intestines were organized in four layers: mucous, submucosa, muscular and serous. The small intestine was characterized by the presence of intestinal villi covered by a simple prismatic epithelium with a striated border and goblet cells supported by the lamina propria conjunctiva. In the large intestine there was an absence of villi and an abundance of goblet cells. PAS + and AB pH 2.5+ reactions in goblet cells indicated the presence of mucosubstances, importante for the lubrication of the intestinal tract for the passage of the fecal bolus. No lipids were detected in the intestines *G. brasiliensis* due to the negative reaction to the Sudan Black B technique. The results of the present study provide subsidies for the conservation of the species and application in phylogenetic studies.

Keywords: goblet cells. Mucosubstances. Enterocytes. Lymphocytes.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O tubo gastrointestinal dos teleósteos morfologicamente é constituído de: cavidade buco faríngea, esôfago, estômago, intestinos e ânus além de órgãos acessórios como fígado, vesícula biliar, pâncreas e bexiga de gás (Santos, Arantes, Santiago & Santos, 2015).

Cavidade buco faríngea

A cavidade buco faríngea de peixes é compartilhada pelos tratos digestivo e respiratório e, no processo de digestão, ela está relacionada com a seleção e captura do alimento, assim como seu preparo pré-digestivo e no direcionamento do alimento para o esôfago (Rotta, 2003). Esta cavidade é composta pelos lábios, língua, dentes orais e faríngeos e arcos branquiais. Possui epitélio estratificado sobre uma espessa membrana basal associada aos ossos ou aos músculos por uma camada de derme condensada.

A posição e a forma da boca são variáveis e estão diretamente relacionadas ao tipo de alimento a ser ingerido. Assim, é possível observar boca ventral, comum entre os peixes que se alimentam no fundo; dorsal, presente naqueles que se alimentam na superfície e terminal na maioria dos peixes carnívoros (Prejs & Colomine, 1981). Os lábios são considerados detectores primários do alimento, com presença de botões gustativos e secreção de muco, auxiliando no processo de sucção do alimento podendo ser encontrados como órgãos adesivos ou estar ausentes em algumas espécies (Rotta, 2003). Algumas espécies apresentam ainda estruturas sensoriais com receptores mecânicos e químicos chamadas de barbilhões, que ajudam a ampliar a capacidade de percepção e adaptação ao ambiente, principalmente os bentônicos e forrageamento, (Godinho, 1967; Park, Kim & Choi, 2012). O epitélio de revestimento dos lábios é classificado histologicamente como estratificado pavimentoso (Khanna & Mehrotra, 1970).

A língua dos peixes é considerada a mais primitiva entre os vertebrados, sendo uma estrutura rudimentar, usualmente rígida ou até mesmo óssea. Na maioria dos teleósteos, ela é uma estrutura imóvel, não protátil e com elasticidade limitada (Rotta, 2003). A língua nos peixes pouco interfere na deglutição, estando associada à apreensão do alimento e a função sensorial. Apesar de não possuir glândulas salivares, a língua apresenta botões gustativos no epitélio (Menin, 1988). Segundo Bértin (1958), a língua dos Teleostei pode ser classificada como triangular, espatulada ou arredondada, sendo constituída de um simples espessamento do assoalho da boca, em contato com a extremidade rostral do arco hioideo. Histologicamente, a

língua dos peixes apresenta epitélio do tipo estratificado pavimentoso com células mucosas e botões gustativos (Genten, Terwinghe & Danguy, 2009).

Os peixes apresentam uma ampla variedade de dentes e estruturas associadas. Os dentes variam de acordo com seu tipo e distribuição, podendo ser dentes orais, encontrados na pré-maxila, maxila, palato e mandíbula, e/ou dentes faríngeos, que estão associados aos arcos branquiais. Geralmente, os dentes são mais desenvolvidos em peixes carnívoros e ausentes ou pouco desenvolvidos nos herbívoros (Rotta, 2003). Para Al-Hussaini (1946) existe forte correlação entre a natureza da dieta e a estrutura dos dentes; para Sampaio & Goulart (2011) sua função está associada à ação mecânica: apreender, triturar, esmagar, cortar e raspar o alimento.

De acordo com Fink (1981), os dentes estão implantados nas placas ósseas por anéis de colágeno, que fazem a conexão entre o órgão dentário e o osso subjacente. Os dentes possuem uma porção apical chamada coroa, que é recoberta por um tecido mineralizado extremamente duro denominado esmalte, já suas raízes são recobertas pelo cimento. O esmalte é produzido durante o desenvolvimento do dente pelos ameloblastos, células colunares altas de origem ectodérmica. A dentina é outro tecido mineralizado que compõe o dente e está localizada imediatamente abaixo do esmalte e do cimento. Ela envolve a cavidade pulpar que é preenchida pela polpa dental, um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado. A dentina é produzida pelos odontoblastos, células alongadas que depositam a matriz orgânica sobre a superfície dentária e estão localizadas na periferia da polpa dental, que consiste de um tecido conjuntivo frouxo bastante vascularizado e innervado. O cimento tem composição semelhante ao tecido ósseo, embora não contenha vasos sanguíneos, sendo mais espesso na região apical da raiz, onde podem ser encontrados os cementócitos (Bemis, Giuliano & McGuire, 2005; Junqueira & Carneiro, 2013; Chen, 2017).

Esôfago

O esôfago é um órgão tubular curto que conecta a cavidade buco faríngea com o estômago sendo uma estrutura elástica capaz de receber e armazenar o alimento (Bone & Moore, 2008). A musculatura estriada do esôfago permite contração voluntária, possibilitando o regurgitamento do alimento quando necessário (Moraes & Almeida, 2014). A túnica muscular longitudinal proporciona expansão da parede do órgão, permitindo receber maior volume de alimento (Rodrigues & Menin, 2008). Para Humbert, Kirsch & Meister, (1984) as regiões craniais e caudais do esôfago apresentam funções diferentes, sendo a região cranial relacionada com área de proteção, e caudal relacionada com a seletividade iônica e a absorção de alimentos.

A camada mucosa do esôfago apresenta epitélio de revestimento variável de acordo com a espécie, podendo ser colunar simples, pseudoestratificado, estratificado pavimentoso ou colunar estratificado, podendo apresentar células caliciformes produtoras de mucosubstâncias ao longo do epitélio esofágico. Estudos sobre a mucosa esofágica mostram a presença de epitélio pavimentoso não queratinizado com a presença de três tipos de células: claviformes, epiteliais e mucosas (Godinho, Tokimaru & Ferri, 1970; Mello, Santos, Arantes, Pessali, Brito & Santos, 2019). De acordo com Santos, Arantes, Santiago & Santos (2015) histologicamente o esôfago de *Schizodon knerii* é dividido nas seguintes camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. O epitélio é estratificado pavimentoso, com células epiteliais intercaladas por células mucosas, glândulas esofágicas tubuloacinares ramificadas e papilas gustativas apenas na região craniana. A camada submucosa consiste em tecido conjuntivo frouxo com células adiposas e vasos sanguíneos. A camada muscular é composta de tecido muscular esquelético com fibras musculares dispostas longitudinalmente na subcamada interna e em forma circular na externa. A camada serosa é a mais externa e consiste em tecido conjuntivo denso e mesotélio.

Estômago

O estômago é o órgão onde o alimento é armazenado, ocorre a digestão química e a digestão mecânica por meio da movimentação gástrica (Bone & Moore, 2008). É um órgão distensível e seu tamanho está relacionado com o tipo de alimento ingerido e o tempo que ele fica armazenado (Kapoor, Smit & Verighina, 1976). O estômago nos peixes teleósteos pode ser classificado em várias formas anatômicas como sifonal, cecal e retilínea. A forma sinfona é a mais comum entre os peixes e possui um ramo descendente cárdico e um ascendente pilórico. Na forma cecal, ocorre uma região de união em fundo cego, sendo a interposição entre os dois segmentos (cárdico e pilórico). A forma retilínea é a menos frequente entre as espécies peixes (Bérting, 1958). Independente da categoria anatômica, o estômago dos peixes ainda pode ser diferenciado histológica e funcionalmente nas regiões cárdica, pilórica e fúndica (Rotta, 2003).

A mucosa do estômago geralmente apresenta epitélio simples colunar (Genten, Terwinghe & Danguy, 2009; Faccioli, Chedid, do Amaral, Vicentini & Vicentini, 2014). As células epiteliais produzem mucosubstâncias apicais, geralmente neutras, com função de proteger o epitélio de revestimento do suco gástrico (Díaz, García & Goldemberg, 2008; Hernandez, Perez Gianiselli & Domitrovic, 2009). A camada muscular dependendo da espécie pode ser muito ou pouco desenvolvida (Hernandez, Perez Gianiselli & Domitrovic, 2009).

contendo fibras musculares lisas orientadas em duas direções: uma subcamada circular interna e outra longitudinal externa (Faccioli, Chedid, do Amaral, Vicentini & Vicentini, 2014).

Algumas espécies de peixes apresentam um órgão acessório embriologicamente derivado do trato digestivo, que é a bexiga de gás, ou bexiga natatória, que apresenta como funções o controle da flutuabilidade, produção de som, recepção de som e respiração aérea. Alguns exemplos de espécies que realizam respiração aérea no estômago são os Trichomycteridae (*Eremophilus mutisii* e *Trichomycterus striatus*) e Loricariidae (*Pterygoplichthys* e *Hypostomus*) (Cruz-Landim & Cruz-Höfling, 1979; Graham, 1997).

Intestino

A falta de uma diferenciação anatômica do intestino de peixes causa uma diversidade de terminologias na sua descrição. Secções tais como intestino anterior relacionado com a absorção de gorduras (Nachi, Hernandez-Blazquez, Barbieri, Leite, Ferri, & Phan, 1998), médio responsável pela absorção de macromoléculas proteicas (Stroband & van der Veen, 1981) e posterior relacionado com a absorção de água e eletrólitos (Noaillac-Depeyre & Gas, 1979), duodeno, jejuno e íleo podem assumir diferentes significados dependendo do autor (Baldisserotto, Cyrino & Urbinati, 2014).

O intestino é um órgão tubular, no qual o alimento transita, ocorre: digestão alcalina, absorção de nutrientes, água e eletrólitos para disponibilizá-los ao metabolismo e ainda possui função imunológica (Nachi, Hernandez-Blazquez, Barbieri, Leite, Ferri, & Phan, 1998). Para isso, esse órgão contém inúmeras estruturas especializadas como vilosidades e microvilosidades que aumentam a área de absorção, permitindo maior contato entre células e nutrientes do lúmen. Os cecos pilóricos são outras estruturas especializadas importantes no processo de absorção de nutrientes e ocorrem na região pilórica (transição entre o estômago e o intestino cranial) e na porção anterior do intestino médio. Alguns autores como Seixas-Filho, Brás, Gomide, Oliveira, Donzele & Menin (2000) e Santos, Arantes, Santiago & Santos (2015) relacionam os cecos pilóricos com a ampliação da superfície de contato contribuindo para o processo de absorção de nutrientes e secreção de muco.

Estudos clássicos sobre o sistema digestivo de peixes como Angelescu & Gneri (1949) e Bértin (1958), estabelecem uma comparação entre o comprimento do intestino e o hábito alimentar nos teleósteos. A partir desses trabalhos foi descrito o indicador morfométrico coeficiente intestinal (CO), o qual expressa a relação entre o comprimento intestinal e comprimento padrão do indivíduo e possibilita relacionar o indivíduo com a idade, fase de desenvolvimento e hábito alimentar, classificando-os em grupos tróficos (Angelescu & Gneri,

1949). O coeficiente intestinal nos peixes carnívoros está compreendido entre 0,2cm e 2,5cm, nos onívoros, entre 0,6cm e 8,0cm e nos herbívoros, entre 0,8cm e 15,0cm (Bértn, 1958).

Histologicamente, o epitélio do intestino é simples prismático com células absorptivas e células caliciformes. A presença de pregas longitudinais, e as camadas musculares circular interna e longitudinal externa em conjunto, promovem a atividade peristáltica que facilita o trânsito do alimento (Genten, Terwinghe & Danguy, 2009). Sua parede é constituída de quatro camadas: mucosa, composta de revestimento epitelial, uma lâmina própria e uma camada muscular da mucosa; submucosa, que apresenta tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos; muscular, constituída de células musculares divididas em subcamadas de acordo com a orientação das fibras e serosa, com uma camada fina de tecido conjuntivo, rica em vasos sanguíneos e revestida por um epitélio pavimentoso simples denominado mesotélio (Xiong, Zhang, Yu, Xie, Kong, Zeng, Huo & Liu, 2011, Wilson & Castro, 2011). Estudos dessas camadas indicam que as principais diferenças entre elas ocorrem no epitélio e estão relacionadas aos hábitos alimentares (Albrecht, Ferreira & Caramaschi, 2001), tipo de alimento ingerido (Germano, Stabille, de Britto Mari, Pereira, Faglioni & de Miranda Neto, 2014), absorção e produção de substâncias mucosas (Albrecht, Ferreira & Caramaschi, 2001).

Biologia da espécie

Geophagus brasiliensis (Quoy & Gaimard, 1824) é um Cichlidae da ordem pertencente à ordem Cichliiformes, conhecido popularmente como acará, cará ou papa-terra. Apresenta ampla distribuição nas bacias hidrográficas costeiras do leste e sudeste do Brasil e Uruguai (Buckup, Menezes & Ghazzi, 2007; Graça & Pavanelli, 2007; Reis, Kullander & Ferraris, 2003) correspondendo a uma espécie frequente em inventários ictiológicos. Sua elevada capacidade de adaptação a ambientes lênticos (Meschiatti, 1995) permitiu a utilização como peixe esportivo em pisciculturas e em pesque-pagues devido à facilidade de reprodução em cativeiro. Além disso, tem sido utilizado também como peixe ornamental na aquariofilia (Assis, Cavalcante & Brito, 2014) por sua atraente coloração e comportamento (Bizerril & da Silveira Primo, 2001).

O acará apresenta um alto grau de plasticidade alimentar e tem sido descrito em diferentes níveis tróficos, o que reflete na sua capacidade de adaptação e sobrevivência em ambientes diversos (Abelha & Goulart, 2004; Bastos, Condini, Varela Junior & Garcia, 2011; Nunes, Rocha & Verani, 2014). Alguns autores o descrevem como uma espécie de hábito alimentar onívoro, com alta incidência de insetos e microcrustáceos (Sabino & Castro, 1990; Stefani, 2006). Outros definem seu hábito alimentar como detritívoro-iliófago (Meschiatti,

1995). De acordo com Lazzaro (1991), os espécimes com menos de 4,0 cm alimentam-se principalmente com larvas de insetos, enquanto os espécimes com mais de 4,0 cm possuem uma dieta mais diversificada, sendo que os principais alimentos são insetos e gastrópodes. Os outros alimentos são fragmentos de artrópodes, fragmentos vegetais, sedimentos, algas e outros itens (Azevedo, Abdallah & Luque, 2006). É uma espécie territorialista, encontrada em locais de remanso, próximos ao fundo. Apresenta atividade diurna, orientação visual e cuidado parental, incluindo guardar os ovos em um ninho ou substrato (Barlow, 2000).



Figura 2: Exemplar de *Geophagus brasiliensis*

Justificativa

Considerando que a maioria dos estudos sobre o tubo gastrointestinal de peixes teleósteos de água doce enfoca a ecologia alimentar e que são pontuais os estudos com espécies neotropicais da família Cichlidae, o presente estudo analisou a morfologia microscópica dos intestinos de *Geophagus brasiliensis* utilizando técnicas histológicas e histoquímicas visando fornecer subsídios para estudos filogenéticos e a conservação da espécie.

Estudos anatômicos e morfológicos representam uma poderosa ferramenta para auxiliar na definição de padrões e resolução de dúvidas taxonômicas, à medida que o conhecimento dos grupos se torna mais complexo com a evolução dos estudos. Dessa forma, novos caracteres podem ser elencados contribuindo para novas discussões e proposições (Alonso, Mirande & Pandolfi, 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelha, M. C. F., & Goulart, E. (2004). Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes, Cichlidae) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 26(1).
- Albrecht, M. P., Ferreira, M. F. N., & Caramaschi, E. P. (2001). Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anostomidae). *Journal of Fish Biology*, 58(2), 419-430.
- Al-Hussaini, A. H. (1946). The anatomy and histology of the alimentary tract of the bottom-feeder, *Mulloidops auriflamma* (Forsk.). *Journal of morphology*, 78(1), 121-153.
- Alonso, F., Mirande, J. M., & Pandolfi, M. (2015). Gross anatomy and histology of the alimentary system of Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) and potential phylogenetic information. *Neotropical Ichthyology*, 13(2), 273-286.
- Assis, D. A. S. D., Cavalcante, S. S., & Brito, M. F. G. D. (2014). *Avaliação do comércio de peixes ornamentais de água doce em Aracaju, Sergipe*. Magistra.
- Azevedo, R. K., Abdallah, V. D., & Luque, J. L. (2006). Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824) (Perciformes: Cichlidae) do rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(4), 403-411.
- Baldisserotto, B., Cyrino, J. E. P., & Urbinati, E. C. (2014). *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Jaboticabal, Brasil: Funep.
- Bastos, R. F., Condini, M. V., Varela Junior, A. S., & Garcia, A. M. (2011). Diet and food consumption of the pearl cichlid *Geophagus brasiliensis* (Teleostei: Cichlidae): relationships with gender and sexual maturity. *Neotropical Ichthyology*, 9(4), 825-830.
- Barlow, G. W. (2000). The cichlid fishes. Cambridge, England: Ed Basic Book.
- Barrington, E. J. W. (1957). The alimentary canal and digestion. *Physiology of Fishes*, 1, 109.
- Bemis, W. E., Giuliano, A., & McGuire, B. (2005). Structure, attachment, replacement and growth of teeth in bluefish, *Pomatomus saltatrix*, a teleost with deeply socketed teeth. *Zoology*, 108(4), 317-327.

- Bértin, L. (1958). Appareil digestif. *Traité de zoologie*, 13(2), 1249-1301.
- Bizerril, C. R. S. F., & da Silveira Primo, P. B. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro*. Fundação de Estudos do Mar.
- Bone, Q. & Moore, R. (2008). *Biology of fishes*. Nova Iorque: Ed. Taylor & Francis.
- Buckup, P. A., Menezes, N. A., & Ghazzi, M. S. A. (2007). *Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil* (23). Rio de Janeiro: Museu Nacional.
- Chen, D. (2017). *The origin of tooth replacement: three-dimensional synchrotron histology visualizes the dental development of Silurian stem osteichthyans* (Doctoral dissertation, Acta Universitatis Upsaliensis).
- Cruz-Landim, C. D., & Cruz-Höfling, M. A. D. (1979). Diferenças ultra-estruturais entre bexigas natatórias de peixes teleósteos de respiração aquática e respiração aérea facultativa. *Acta Amazonica*, 9(2), 317-323.
- Díaz, A. O., García, A. M., & Goldemberg, A. L. (2008). Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: a histochemical study. *Acta Histochemica*, 110(1), 76-85.
- Faccioli, C. K., Chedid, R. A., do Amaral, A. C., Vicentini, I. B. F., & Vicentini, C. A. (2014). Morphology and histochemistry of the digestive tract in carnivorous freshwater *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes: Pimelodidae). *Micron*, 64, 10-19.
- Fink, W. L. (1981). Ontogeny and phylogeny of tooth attachment modes in actinopterygian fishes. *Journal of Morphology*, 167(2), 167-184.
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. CRC Press.
- Germano, R., Stabille, S. R., de Britto Mari, R., Pereira, J. N. B., Faglioni, J. R. S., & de Miranda Neto, M. H. (2014). Morphological characteristics of the *Pterodoras granulosus* digestive tube (Valenciennes, 1821) (Osteichthyes, Doradidae). *Acta Zoologica*, 95(2), 166-175.
- Godinho, H. (1967). Estudos anatômicos sobre o trato alimentar de um Siluroidei, *Pimelodus maculatus* Lacépède. *Revista Brasileira de Biologia*, 27(4), 425-433.
- Godinho, H., Tokimaru, M., & Ferri, A. G. (1970). Histologia do trato digestivo de *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei). *Revista Brasileira de Biologia*, 30(4), 583-593.

- Graça, W. J., & Pavanelli, C. S. (2007). Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. Maringá, Brasil: EDUEM.
- Graham, J. B. (Ed.). (1997). *Air-breathing fishes: evolution, diversity, and adaptation*. Elsevier.
- Hernandez, D. R., Perez Gianiselli, M., & Domitrovic, H. A. (2009). Morphology, histology and histochemistry of the digestive system of South American catfish (*Rhamdia quelen*). *International Journal of Morphology*, 27(1), 105-111.
- Humbert, W., Kirsch, R., & Meister, M. F. (1984). Scanning electron microscopic study of the oesophageal mucous layer in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Biology*, 25(1), 117-122.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2013). *Histologia Básica* (10^a ed.). Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan SA.
- Kapoor, B. G., Smit, H., & Verighina, I. A. (1976). The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in marine biology*, 13, 109-239.9
- Khanna, S. S., & Mehrotra, B. K. (1970). Histomorphology of buccopharynx in relation to feeding habits in teleosts. *Proceedings of the national academy of sciences India section b-biological sciences*. 40, 61.
- Lazzaro, X. (1991). Feeding convergence in South American and African zooplanktivorous cichlids *Geophagus brasiliensis* and *Tilapia rendalli*. *Environmental Biology of Fishes*, 31(3), 283-293.
- Mello, G. C., Santos, M. L., Arantes, F. P., Pessali, T. C., Brito, M. F., & Santos, J. E. (2019). Morphological characterisation of the digestive tract of the catfish *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes, Pseudopimelodidae). *Acta Zoologica*, 100(1), 14-23.
- Menin, E. (1988). Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestivo de seis Teleostei (Pisces) de água doce. *São Paulo: Universidade de São Paulo*.
- Meschiatti, A. J. (1995). Alimentação da comunidade de peixes de uma lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu, SP. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 7, 115-137.
- Moraes, G. & Almeida, L. C. (2014). Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: *Baldisseroto, B.; Cyrino, JEP; Urbinati, EC Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de agua doce. FUNEP, UNESP. Jaboticabal*, 233-252.

- Nachi, A. M., Hernandez-Blazquez, F. J., Barbieri, R. L., Leite, R. G., Ferri, S., & Phan, M. T. (1998). Intestinal histology of a detritivorous (iliophagous) fish *Prochilodus scrofa* (characiformes, prochilodontidae). *Annales des Sciences Naturelles-Zoologie et Biologie Animale*, 19(2), 81-88.
- Noaillac-Depeyre, J., & Gas, N. (1979). Structure and function of the intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatilis* L.). *The Anatomical Record*, 195(4), 621-639.
- Nunes, M. V., Rocha, O., & Verani, J. R. (2014). Trophic interactions between the fish *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae) and the benthic macroinvertebrate community. *Neotropical Fauna and Environment*, 49(1), 11–17.
- Park, In-S., C. H. Kim, J. W. Choi. (2012). Histological observations and regeneration of barbels in juveniles of the Chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris*. *Fisheries and aquatic sciences*, 15(4), 299-303.
- Prejs, A., & Colomine, G. (1981). *Métodos para el estudio de los alimentos y las relaciones tróficas de los peces*. Universidad Central de Venezuela, Instituto de Zoología Tropical. 742(1), 129-140.
- Reis, R. E., Kullander, S. O., & Ferraris, C. J. (2003). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs.
- Rodrigues, S. S., & Menin, E. (2008). Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). *Biotemas*, 21(2), 65-75.
- Rotta, M. A. (2003). Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. *Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)*.
- Sabino, J. & R. M. C. Castro. (1990). Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da Floresta Atlântica (sudeste do Brasil). *Revista Brasileira de Biologia*, 50, 23-36.
- Sampaio, A. L. A., & Goulart, E. (2011). Ciclídeos neotropicais: ecomorfologia trófica. *Oecologia Australis*, 15(04): 775-798.
- Santos, M. L. D., Arantes, F. P., Santiago, K. B., & Santos, J. E. D. (2015). Morphological characteristics of the digestive tract of *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875) (Characiformes:

Anostomidae): An anatomical, histological and histochemical study. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 867-878.

Seixas Filho, J. T. D., Brás, J. D. M., Gomide, A. T. D. M., Oliveira, M. G. D. A., Donzele, J. L., & Menin, E. (2000). Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do Teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(2), 313-324.

Stefani, P. M. (2006). *Ecologia trófica de espécies alóctones (Cichla cf. ocellaris e Plagioscion squamosissimus) e nativa (Geophagus brasiliensis) nos reservatórios do rio Tietê* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Stroband, H. W. J., & van der Veen, F. H. (1981). Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of the grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Journal of Experimental Zoology*, 218(2), 149-156.

Wilson, J. M., & Castro, L. F. C. (2010). Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In *Fish physiology*, 30, 1-55).

Xiong, D., Zhang, L., Yu, H., Xie, C., Kong, Y., Zeng, Y., Huo, B. & Liu, Z. (2011). A study of morphology and histology of the alimentary tract of *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Acta Zoologica*, 92(2), 161-169.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Analisar a morfologia microscópica dos intestinos de *Geophagus brasiliensis* utilizando técnicas histológicas, histoquímicas e histométricas.

Objetivos Específicos

- Diferenciar em lâminas histológicas intestino delgado (regiões: cranial e média) do intestino grosso (região caudal);
- Identificar em lâminas histológicas os componentes das camadas do intestino delgado e intestino grosso;
- Detectar o conteúdo histoquímico das células dos intestinos;
- Determinar em lâminas histológicas diâmetro das células caliciformes, altura do epitélio de revestimento e comprimento das vilosidades intestinais do intestino delgado por meio de técnicas histométricas;
- Associar a morfologia dos intestinos delgado e grosso com as respectivas funções.

ARTIGO A SER SUBMETIDO

ANÁLISE COMPARATIVA DOS INTESTINOS DELGADO E GROSSO DO ACARÁ *Geophagus brasiliensis* (QUOY & GAIMARD, 1824) (PISCES: CICHLIDAE).

RESUMO

Geophagus brasiliensis conhecido popularmente como acará, é um peixe de água doce comum em ambientes lênticos da América do Sul, pertencente à ordem Cichliformes e à família Cichlidae. O acará apresenta plasticidade alimentar com hábito alimentar podendo ser detritívoro-iliófago ou onívoro. O presente estudo tem como objetivo analisar por meio de técnicas histológicas e histoquímicas os intestinos do acará. Os peixes foram coletados no lago da PUC Minas *campus* Coração Eucarístico (19-20° S, 43-44° W) nos meses de outubro a dezembro de 2019, utilizando tarrafa de malha com 3,0 cm entre nós opostos. Os exemplares foram submetidos à biometria e dissecação para a retirada de fragmentos dos intestinos delgado e grosso. As amostras foram fixadas em líquido de Bouin por 12h e submetidas às técnicas histológicas de rotina e técnicas histoquímicas clássicas. Histologicamente os intestinos delgado e grosso apresentaram-se organizados em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. O intestino delgado caracterizou-se pela presença de vilosidades intestinais revestidas por epitélio simples prismático com borda estriada e células caliciformes apoiado na lâmina própria conjuntiva. No intestino grosso observou-se ausência de vilosidades e abundância de células caliciformes. As reações PAS+ e AB pH 2,5+ nas células caliciformes indicaram presença de mucosubstâncias, importantes para a lubrificação do trato intestinal para a passagem do bolo fecal. Não foram detectados lípides nos intestinos *G. brasiliensis* devido à reação negativa a técnica do Sudan Black B. Os resultados do presente estudo fornecem subsídios para a conservação da espécie e aplicação em estudos filogenéticos.

Palavras chave: células caliciformes. Mucosubstâncias. Enterócitos. Linfócitos.

ABSTRACT

Geophagus brasiliensis popularly known as acará, is a freshwater fish common in lentic environments in South America, belonging to the order Cichliformes and the family Cichlidae. The acara has a detritivorous-iliophage or omnivorous feeding habit, with high food plasticity. The present study aims to analyze by means of histological and histochemical techniques the intestines of the acar. The fish were collected in the PUC Minas *campus* Coração Eucarístico (19-20 S, 43-44 W) in the months of October to December 2019, using a 3.0 cm mesh net between opposite nodes. The specimens were submitted to biometrics and dissection to remove fragments of the small and large intestines. The samples were fixed in Bouin liquid for 12 hours and subjected to routine histological techniques and classic histochemical techniques. Histologically, the small and large intestines were organized in four layers: mucous, submucosa, muscular and serous. The small intestine was characterized by the presence of intestinal villi covered by simple prismatic epithelium with a striated border and goblet cells supported by the lamina propria conjunctiva. In the large intestine there was an absence of villi and abundance of goblet cells. PAS + and AB pH 2.5+ reactions in goblet cells indicated the presence of mucosubstances, important for the lubrication of the intestinal tract for the passage of the fecal bolus. No lipids were detected in the intestines *G. brasiliensis* due to the negative reaction to the Sudan Black B technique. The results of the present study provide subsidies for the conservation of the species and application in phylogenetic studies.

Keywords: goblet cells. Mucosubstances. Enterocytes. Lymphocytes.

INTRODUÇÃO

O sistema digestivo de peixes apresenta variações morfológicas e funcionais marcantes, o que retrata a ampla diversidade deste grupo zoológico e seus diferentes hábitos alimentares (Díaz, García, Devinenti, & Goldemberg, 2003). A morfologia geral do trato digestivo está relacionada principalmente com a natureza dos hábitos alimentares, o ambiente no qual o peixe está inserido, o tamanho e a forma do corpo, assim como visto em Andrade, Guimarães, Rotundo & Mari (2017). Embora, o tubo gastrointestinal se diferencie consideravelmente entre as espécies, nos teleósteos ele apresenta algumas semelhanças estruturais básicas, como sua divisão anatômica constituída de cavidade buco faríngea, esôfago, estômago, intestinos e ânus; e órgãos acessórios como fígado, vesícula biliar e o pâncreas (Santos, Arantes, Santiago & Santos, 2015). A presença de órgãos acessórios e de alguns órgãos como o estômago que pode variar de acordo com a espécie, assim como os cecos pilóricos nos intestinos e a secreção produzida por algumas células (Baldisserotto, Cyrino & Urbinati, 2014).

Os estudos de morfologia comparada esbarram na ausência de padronização no que se refere à diferenciação histológica dos intestinos de peixes devido a uma diversidade de terminologias na sua descrição e na diversidade de hábitos alimentares deste grupo. Secções, tais como intestino anterior ou cranial, médio e posterior ou caudal (Mello, Santos, Arantes, Pessali, Brito & Santos, 2019; Nachi, Hernandez-Blazquez, Barbieri, Leite, Ferri & Phan, 1998;) podem assumir diferentes significados dependendo do autor (Baldisserotto et al., 2014). Devido a estas divergências o presente estudo analisou os intestinos considerando duas regiões histológicas distintas: delgado e grosso, similar aos procedimentos de Amorim, Gomes, Martins, Sato, Rizzo & Bazzoli (2009) para o Siluriforme *Rhamdia quelen*.

O intestino delgado é um órgão tubular, no qual o alimento transita e onde ocorre: digestão alcalina, absorção de nutrientes, água e eletrólitos para disponibilizá-los ao metabolismo, além de possuir função imunológica (Nachi et al., 1998). Para isso, esse órgão contém estruturas especializadas como vilosidades, microvilosidades e cecos pilóricos que aumentam a área de absorção (Santos et al., 2015). A presença de pregas longitudinais, e as camadas musculares circular interna e longitudinal externa em conjunto, promovem a atividade peristáltica que facilita o trânsito do alimento (Genten, Terwinghe & Danguy, 2009).

O intestino grosso localizado na região caudal não apresenta vilosidades e está relacionado com a absorção de água e eletrólitos, secreção de muco e eliminação das fezes, apresentando especializações como células absorptivas intestinais e numerosas células caliciformes (Amorim et al., 2009).

Geophagus brasiliensis (Quoy & Gaimard, 1824) é um Cichlidae da ordem pertencente à ordem Cichliformes, conhecido popularmente como acará, cará ou papa-terra. Apresenta ampla distribuição nas bacias hidrográficas costeiras do leste e sudeste do Brasil e Uruguai (Buckup, Menezes & Ghazzi, 2007; Graça & Pavanelli, 2007; Reis, Kullander & Ferraris, 2003) correspondendo a uma espécie frequente em inventários ictiológicos. Sua elevada capacidade de adaptação a ambientes lênticos (Meschiatti, 1995) permitiu a utilização como peixe esportivo em pisciculturas e em pesque-pagues devido à facilidade de reprodução em cativeiro. Além disso, tem sido utilizado também como peixe ornamental na aquariofilia (Assis, Cavalcante & Brito, 2014) por sua atraente coloração e comportamento (Bizerril & da Silveira Primo, 2001).

O acará apresenta um alto grau de plasticidade alimentar e tem sido descrito em diferentes níveis tróficos, o que reflete na sua capacidade de adaptação e sobrevivência em ambientes diversos (Abelha & Goulart, 2004; Bastos, Condini, Varela Junior & Garcia, 2011; Nunes, Rocha & Verani, 2014). Alguns autores o descrevem como uma espécie de hábito alimentar onívoro, com alta incidência de insetos e microcrustáceos (Sabino & Castro, 1990; Stefani, 2006). Outros definem seu hábito alimentar como detritívoro-iliófago (Meschiatti, 1995). De acordo com Lazzaro (1991), os espécimes com menos de 4,0 cm alimentam-se principalmente com larvas de insetos, enquanto os espécimes com mais de 4,0 cm possuem uma dieta mais diversificada, sendo que os principais alimentos são insetos e gastrópodes. Os outros alimentos são fragmentos de artrópodes, fragmentos vegetais, sedimentos, algas e outros itens (Azevedo, Abdallah & Luque, 2006). É uma espécie territorialista, encontrada em locais de remanso, próximos ao fundo. Apresenta atividade diurna, orientação visual e cuidado parental, incluindo guardar os ovos em um ninho ou substrato (Barlow, 2000).

Pelo exposto, o presente estudo analisa os intestinos do *Geophagus brasiliensis*, utilizando técnicas histológicas, histoquímicas e histométricas visando fornecer subsídios para a conservação da espécie e aplicação em estudos filogenéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

O lago da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais *campus* Coração Eucarístico (19-20° S, 43-44° W) foi criado em 1975 e localiza-se no entorno de um fragmento de Mata Atlântica. Possui área de 1,280 m² com volume de aproximadamente 1,664 m³ e profundidade máxima de 2,10 m³ (Landa & Landa, 2001). Está incluído na micro bacia do Ribeirão Arrudas, entre os bairros Dom Cabral e Minas Brasil, em Belo Horizonte, Minas Gerais. O lago é cercado parcialmente por uma faixa de mata ripária, no qual demonstra uma aptidão à drenagem.

A interação entre o lago e mata da PUC Minas pode ser considerada como um micro ecossistema biológico, uma vez que abriga uma diversidade de espécies que variam desde peixes (por exemplo *Oreochromis niloticus*, e *Poecilia reticulata*, com quem *Geophagus brasiliensis* compete por recursos) a insetos, anfíbios, répteis, aves e espécies da flora remanescentes a vegetação original que um dia cobriu toda esta região (Rocha & Pinto, 2000).

Amostragem

As coletas ocorreram nos meses de outubro a dezembro de 2019 com auxílio de tarrafa de malha 3,0 cm entre nós opostos (n = 40 exemplares). Os peixes foram anestesiados com Eugenol e eutanasiados por secção transversal da medula cervical seguindo os princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2013). A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA PUC Minas protocolo N° 26/2019) e licença de pesca científica IEF N° 02000000270/15. Os exemplares foram transportados para o Laboratório de Ictiologia do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados da PUC Minas, onde foi realizada a biometria e dissecação dos exemplares.

Microscopia de luz

Para análise histológica, fragmentos do intestino delgado e grosso foram seccionados transversalmente e fixados em líquido de Bouin por oito horas e conservados e desidratados em álcool crescente. Posteriormente, os fragmentos foram incluídos em parafina, cortados com 5 µm de espessura no micrótomo e as lâminas histológicas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e tricômico de Gomori (TG).

Para determinar o conteúdo histoquímico de células e estruturas dos intestinos delgado e grosso as seguintes técnicas foram utilizadas: ácido periódico-Schiff (PAS) para glicogênio, glicoproteínas neutras e sialomucinas; amilase salivar (30 min a 37°C) para digestão de glicogênio, seguida do PAS (Amilase + PAS); Alcian blue pH 2,5 (AB pH 2,5) para glicoconjugados ácidos carboxilados e sulfatos incluindo sialomucinas; Alcian blue pH 0,5 (AB pH 0,5) para glicoconjugados sulfatados e Sudan black B (SB) para lípidos em geral. As lâminas histológicas e histoquímicas foram fotografadas em microscópio Olympus - BX50 acoplado com câmera Olympus SC-30 e analisadas em toda sua extensão.

Para as análises histométricas dos intestinos delgado e grosso, secções em lâminas histológicas foram analisadas em toda sua extensão e fotografadas com objetiva 4X e 20X em cinco campos selecionados aleatoriamente e foram mensuradas vilosidades, epitélio e células caliciformes. As medições foram realizadas utilizando o software Olympus CELL, com câmera Olympus SC-30 acoplado ao microscópio Olympus - BX50.

RESULTADOS

Histologicamente o intestino delgado de *G. brasiliensis* apresentou-se organizado em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa reveste as vilosidades intestinais sendo constituída por epitélio simples prismático com borda estriada ou borda em escova e células caliciformes apoiado na membrana basal e lâmina própria conjuntiva (Figura 2a). O epitélio está em contato com a luz do tubo digestivo e as células prismáticas são absorptivas e denominadas enterócitos. A submucosa, encontra-se logo abaixo da mucosa, sendo constituída por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado (Figura 2b). A camada muscular é formada por dois feixes musculares em toda a extensão do intestino: camadas circular interna e longitudinal externa, ambas constituídas por fibras musculares lisas (Figura 2c). A camada serosa é formada por células epiteliais pavimentosas, mesotélio e por delgada camada de tecido conjuntivo frouxo. Nas vilosidades também foram observados abundantes linfócitos (Figura 2d).

O intestino grosso de *G. brasiliensis* histologicamente também se apresentou organizado em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa sem a presença de vilosidades intestinais (Figura 3). Na mucosa observaram-se células absorptivas intestinais e grande quantidade de células caliciformes.

Em ambos os intestinos foi possível detectar na membrana basal glicoproteínas neutras devido à reação positiva à técnica do PAS e nas células caliciformes glicoproteínas ricas

em ácido siálico, as sialomucinas, devido às reações positivas às técnicas do PAS e AB em pH 2,5 (Figuras 2e, 2f, 3e, 3f). Nenhuma estrutura dos intestinos apresentou reação positiva à técnica do SB e à técnica do AB pH 0,5 (Tabela 1).

A histometria das estruturas do intestino delgado apresentou os seguintes valores (média $\pm$ desvio padrão): comprimento das vilosidades = $320,18 \pm 116,0$ μm , altura do epitélio de revestimento = $44,18 \pm 12,13$ μm e diâmetro das células caliciformes = $10,88 \pm 1,95$ μm . A histometria do intestino grosso apresentou os seguintes valores (média $\pm$ desvio padrão): altura do epitélio de revestimento = $52,58 \pm 12,30$ e diâmetro das células caliciformes = $9,17 \pm 1,93$.

Tabela 1: Reações histoquímicas nas células caliciformes, enterócitos e membrana basal no intestino delgado e intestino grosso de *G. brasiliensis*

	Células Caliciformes	Enterócitos	Membrana Basal
PAS	+	-	+
AB pH 2,5	+	-	-
AB pH 0,5	-	-	-
SB	-	-	-

PAS = ácido periódico-Schiff; AB pH 2,5 = Alcian blue em pH 2,5; AB pH 0,5 = Alcian blue em pH 0,5; SB = Sudan Black B; + = positivo; - = negativo.

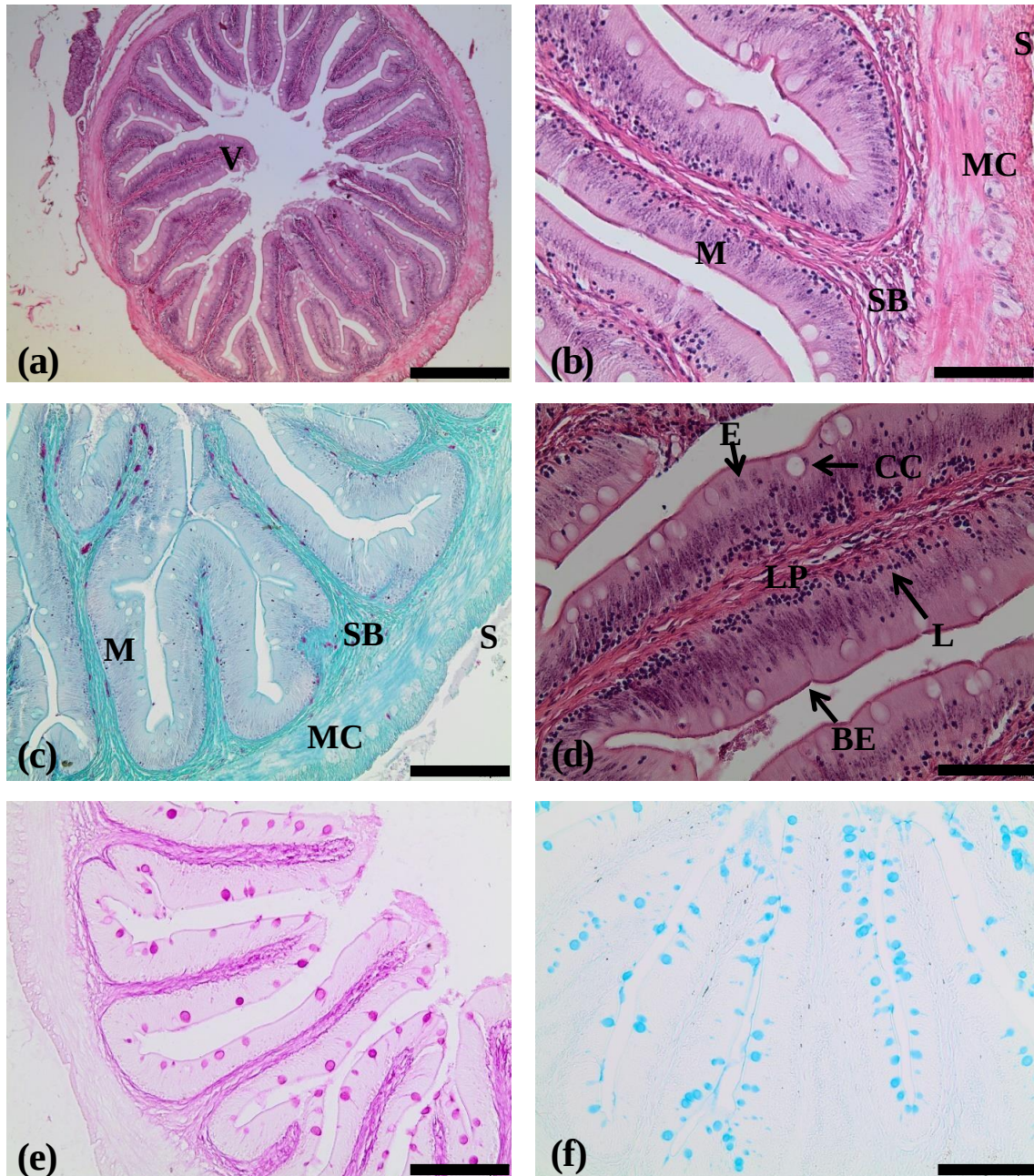


Figura 2: Secções transversais do intestino delgado do *Geophagus brasiliensis*: (a) Visão panorâmica do intestino delgado mostrando vilosidades intestinais (V) coradas em HE – Barra 300 μ m; (b-c) Camadas Mucosa (M), Submucosa (SB), Muscular (MC) e Serosa (S), B= HE – Barra 60 μ m e C= TG – Barra 150 μ m; (d) Detalhe de vilosidade mostrando lâmina própria conjuntiva (LP), células caliciformes (CC); linfócitos (L), enterócitos (E) e borda estriada (BE) – Barra 60 μ m; (e) Reação PAS positiva nas células caliciformes – Barra 150 μ m; (f) Reação AB pH 2,5 positiva nas células caliciformes – Barra 150 μ m.

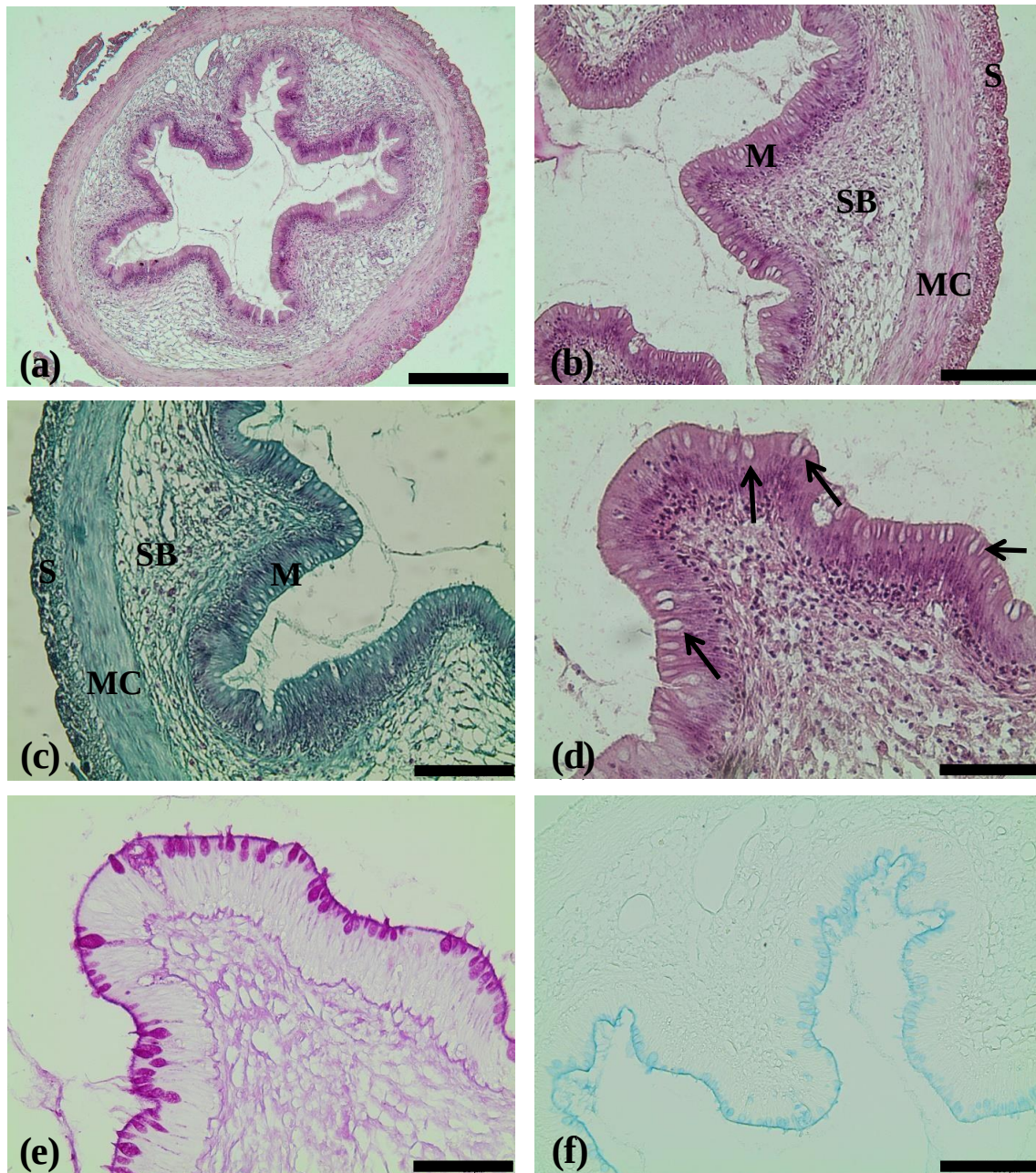


Figura 3: Secções transversais do intestino grosso do *Geophagus brasiliensis*: (a) Visão panorâmica do intestino grosso mostrando ausência de vilosidades corada em HE – Barra 250 μm ; (b-c) Camadas Mucosa (M), Submucosa (SB), Muscular (MC) e Serosa (S), B= HE – Barra 140 μm e C= TG – Barra 140 μm ; (d) detalhe da mucosa repleta de células caliciformes (setas) – Barra 70 μm ; (e) Reação PAS positiva nas células caliciformes – Barra 70 μm ; (f) Reação AB pH 2,5 positiva nas células caliciformes – Barra 70 μm .

DISCUSSÃO

De acordo com a revisão da literatura, constatou-se que a maioria dos estudos sobre o trato digestivo de teleósteos enfoca a ecologia alimentar de peixes de água doce e uma menor parcela analisou a morfologia do trato digestivo de espécies Neotropicais, especialmente as espécies da família Cichlidae. Além disso, raros estudos utilizam técnicas histológicas, histoquímicas e histométricas, o que justifica a realização do presente estudo.

Os intestinos delgado e grosso de *G. brasiliensis* apresentaram-se constituídos por quatro camadas distintas ao longo de toda a sua extensão, padrão comum ao intestino da maioria dos Actinopterygii (Albrecht, Ferreira & Caramaschi, 2001; Mello et al., 2019; Wilson & Castro, 2010; Xiong et al., 2011,). Estudos dessas camadas indicam que as principais diferenças entre elas ocorrem no epitélio e estão relacionadas aos hábitos alimentares, tipo de alimento ingerido, absorção e produção de substâncias mucosas (Albrecht et al., 2001; Germano et al., 2014).

Do ponto de vista histofisiológico, os intestinos de teleósteos têm sido divididos em três segmentos: proximal, com células especializadas na absorção de lipídios; médio, responsável pela absorção de proteínas e distal cuja função é a absorção de água e eletrólitos (Noaillac-Depeyre & Gas, 1979; Stroband & Van Der Veen, 1981; Clements & Raubenheimer, 2006). No presente estudo, devido à dificuldade de diferenciação histológica das regiões proximal (cranial) e média elas foram reunidas com a denominação de intestino delgado e, a região distal (caudal) foi denominada intestino grosso similar aos procedimentos de Amorim et al., 2009.

Os linfócitos observados nas vilosidades intestinais e no intestino grosso de *G. brasiliensis* provavelmente têm função reguladora, suprimindo a resposta do sistema imune para antígenos intestinais e induzindo simultaneamente uma resposta imune na lâmina própria (Pabst, 1987). Assim, o grande número de linfócitos na mucosa intestinal de peixes sugere a existência de um sistema imune local, o mucoso (Rombout, Bot, & Taverne-Thiele, 1989). Além disso, essas células apresentam grande potencial para detectar impactos ambientais a partir da sua morfologia (Younis, Abdel-Warith, Al-Asgah, Ebaid & Mubarak, 2013).

As células caliciformes observadas no presente estudo são de ocorrência geral no trato digestivo de vertebrados (Kapoor, Smit & Verighina, 1976; Kardong, 2011) e elas secretam glicoproteínas ricas em ácido siálico, as sialomucinas, que são mucosubstâncias com funções de umidificação do epitélio, alteração da viscosidade e proteção mecânica contra a invasão bacteriana (Petrinec, Nejedly, Kuzir & Opacak, 2005; Santos et al., 2015; Yashpal & Mittal, 2014). A abundância das células caliciformes e sua atividade secretora podem variar dependendo das condições ambientais (Burkhardt-Holm, Schumacher, Welsch & Storch, 1989). A presença de mucosubstâncias neutras combinadas com fosfatase alcalina estão

envolvidas na digestão e emulsificação do alimento ao quimo (Clarke & Witcomb, 1980). Além disso, é possível que não somente a quantidade, mas também a composição química do muco pode refletir a natureza do alimento ingerido (Burkhardt-Holm et al., 1989). Em *G. brasiliensis*, as mucosubstâncias secretadas pelas células caliciformes podem estar associadas à lubrificação da mucosa intestinal que facilita o transporte de macromoléculas alimentares, como também observado por Mello et al., (2019).

As análises histométricas realizadas indicaram aumento da quantidade de células caliciformes no intestino grosso em relação ao intestino delgado, assim como observado em estudos com espécies como *Lophiosilurus alexandri* (Mello et al 2019), *Prochilodus scrofa* (Nachi et al., 1998); *Serrasalmus nattereri* (Raji & Norouzi, 2010). O aumento da concentração de células caliciformes na região final do intestino está relacionado com a necessidade de maior proteção da mucosa e aumento da sua viscosidade para a expulsão fecal (Al-Hussaini, 1949). Os dados histométricos associados às análises histológicas e histoquímicas obtidos no presente estudo fornecem subsídios para compreensão da fisiologia digestiva de *G. brasiliensis*. De fato, estudos morfológicos do trato digestivo de peixes, são considerados ferramentas eficazes para a compreensão dos mecanismos de ingestão, digestão e absorção de alimentos (Germano et al., 2014)

Os resultados deste estudo fornecem subsídios para a compreensão da biologia e fisiologia dos intestinos de *G. brasiliensis*, além de seu manejo e conservação, como também relatado em vários estudos clássicos com outras espécies (Al-Hussani, 1949; Angelescu & Gneri, 1949; Xiong et al., 2011).

CONCLUSÃO

O uso de técnicas histológicas, histoquímicas e histométricas se mostraram eficazes na caracterização e organização morfológica dos intestinos delgado e grosso em peixes, uma vez que o uso apenas da diferenciação anatômica macroscópica não nos permite definir com precisão as regiões dos intestinos e suas respectivas características e propriedades fisiológicas, ocasionando uma diversidade de terminologias em sua descrição e consequentemente podendo contribuir para ambiguidades em estudos sobre os sistemas digestivos de peixes.

As regiões do intestino delgado e grosso se diferenciaram pela presença ou não de vilosidades intestinais, altura do epitélio de revestimento e diâmetro de células caliciformes contribuintes no processo de trânsito do bolo fecal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelha, M. C. F., & Goulart, E. (2004). Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes, Cichlidae) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 26(1).
- Albrecht, M. P., Ferreira, M. F. N., & Caramaschi, E. P. (2001). Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anostomidae). *Journal of Fish Biology*, 58(2), 419-430.
- Al-Hussaini, A. H. (1949). On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: anatomy and histology. *Journal of cell Science*, 3(10), 109-139.
- Amorim, M. P., Gomes, B. V. C., Martins, Y. S., Sato, Y., Rizzo, E., & Bazzoli, N. (2009). Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. *Aquaculture Research*, 40(2), 172-180.
- Andrade, I. M., Guimaraes, J. P., Rotundo, M. M., & Mari, R. B. (2017). Morphology of the digestive tract of the *Whitemouth croaker Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Perciformes: Sciaenidae). *Acta Zoologica*, 98(2), 136-143.
- Angelescu, V., & Gneri, F. S. (1949). *Adaptaciones del aparato digestivo al régimen alimenticio en algunos peces del Río Uruguay y del Río de la Plata: I. tipo omnívoro e iliófago en representantes de las familias" Loricariidae" y" Anostomidae*. Casa Ed." Coni.
- Assis, D. A. S. D., Cavalcante, S. S., & Brito, M. F. G. D. (2014). Avaliação do comércio de peixes ornamentais de água doce em Aracaju, Sergipe. *Magistra*.
- Baldisserotto, B., Cyrino, J. E. P., & Urbinati, E. C. (2014). *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Jaboticabal, Brasil: Funep.
- Bastos, R. F., Condini, M. V., Varela Junior, A. S., & Garcia, A. M. (2011). Diet and food consumption of the pearl cichlid *Geophagus brasiliensis* (Teleostei: Cichlidae): relationships with gender and sexual maturity. *Neotropical Ichthyology*, 9(4), 825-830.
- Bizerril, C. R. S. F., & da Silveira Primo, P. B. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro*. Fundação de Estudos do Mar.

- Buckup, P. A., Menezes, N. A., & Ghazzi, M. S. A. (2007). *Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil*, 23. Rio de Janeiro: Museu Nacional.
- Burkhardt-Holm, P., Schumacher, U., Welsch, U., & Storch, V. (1989). Carbohydrate-histochemistry of the intestine of teleosts with different dietary habits. *Jahrbuch für Morphologie und mikroskopische Anatomie. 2. Abteilung, Zeitschrift für mikroskopisch-anatomische Forschung*, 103(3), 476-494.
- Clarke, A. J., & Witcomb, D. M. (1980). A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). *Journal of Fish Biology*, 16(2), 159-170.
- Clements, K. D., & Raubenheimer, D. (2006). Feeding and nutrition. *The physiology of fishes*, 47, 82.
- CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. (2013). Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.
- Diaz, A. O., Garcia, A. M., Devincenti, C. V., & Goldemberg, A. L. (2003). Morphological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in *Engraulis anchoita* (Hubbs and Marini, 1935). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 32(6), 341-346.
- de Azevedo, R. K., Abdallah, V. D., & Luque, J. L. (2006). Ecologia da comunidade de metazoários parasitos do acará *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824) (Perciformes: Cichlidae) do rio Guandu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(4), 403-411.
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. CRC Press.
- Germano, R., Stabille, S. R., de Britto Mari, R., Pereira, J. N. B., Faglioni, J. R. S., & de Miranda Neto, M. H. (2014). Morphological characteristics of the *Pterodoras granulosus* digestive tube (Valenciennes, 1821) (Osteichthyes, Doradidae). *Acta Zoologica*, 95(2), 166-175.
- Graça, W. J., & Pavanelli, C. S. (2007). *Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes*. Maringá, Brasil: EDUEM.
- Kapoor, B. G., Smit, H., & Verighina, I. A. (1976). The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in marine biology*, 13, 109-239.

- Kardong, K. V. (2011). *Vertebrados—Anatomia Comparada, Função e Evolução*. (5ª edição). São Paulo, Brasil: Editora Roca.
- Landa, G. G., & Landa, F. D. S. (2001). Limnologia de um sistema lêntico raso (Represa do Campus da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG—PUC Minas/BH) I—Características morfométricas e físico-químicas. *BIOS, Cadernos do Departamento de Ciências Biológicas da PUC Minas*, 9, 63-71.
- Lazzaro, X. (1991). Feeding convergence in South American and African zooplanktivorous cichlids *Geophagus brasiliensis* and *Tilapia rendalli*. *Environmental Biology of Fishes*, 31(3), 283-293.
- Mello, G. C., Santos, M. L., Arantes, F. P., Pessali, T. C., Brito, M. F., & Santos, J. E. (2019). Morphological characterisation of the digestive tract of the catfish *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes, Pseudopimelodidae). *Acta Zoologica*, 100(1), 14-23.
- Meschiatti, A. J. (1995). Alimentação da comunidade de peixes de uma lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu, SP. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 7, 115-137.
- Nachi, A. M., Hernandez-Blazquez, F. J., Barbieri, R. L., Leite, R. G., Ferri, S., & Phan, M. T. (1998). Intestinal histology of a detritivorous (iliophagous) fish *Prochilodus scrofa* (characiformes, prochilodontidae). *Annales des Sciences Naturelles-Zoologie et Biologie Animale*, 19(2), 81-88.
- Noaillac-Depeyre, J., & Gas, N. (1979). Structure and function of the intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatilis* L.). *The Anatomical Record*, 195(4), 621-639.
- Nunes, M. V., Rocha, O., & Verani, J. R. (2014). Trophic interactions between the fish *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae) and the benthic macroinvertebrate community. *Neotropical Fauna and Environment*, 49(1), 11–17.
- Pabst, R. (1987). The anatomical basis for the immune function of the gut. *Anatomy and embryology*. 176(2), 135-144.
- Petrinec, Z., Nejedli, S., Kuzir, S., & Opacak, A. (2005). Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L.) and european catfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinarski arhiv*, 75(4), 317.

- Raji, A. R., & Nourouzi, E. (2010). Histological and histochemical study on the alimentary canal in Walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*. 11(3),255-261.
- Reis, R. E., Kullander, S. O., & Ferraris, C. J. (2003). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs.
- Rocha, G. S., & M. T. C. Pinto, 2000. A microbacia hidrográfica da mata da PUC Minas (Belo Horizonte, MG). Projeto de pesquisa (Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte).
- Rombout, J. H. W. M., Bot, H. E., & Taverne-Thiele, J. J. (1989). Immunological importance of the second gut segment of carp: Characterization of mucosal leucocytes. *Journal of Fish Biology*, 35(2), 167-178.
- Sabino, J. & R. M. C. Castro. (1990). Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da Floresta Atlântica (sudeste do Brasil). *Revista Brasileira de Biologia*, 50, 23-36.
- Santos, M. L. D., Arantes, F. P., Santiago, K. B., & Santos, J. E. D. (2015). Morphological characteristics of the digestive tract of *Schizodon knerii* (Steindachner, 1875) (Characiformes: Anostomidae): An anatomical, histological and histochemical study. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 867-878.
- Stefani, P. M. (2006). *Ecologia trófica de espécies alóctones (Cichla cf. ocellaris e Plagioscion squamosissimus) e nativa (Geophagus brasiliensis) nos reservatórios do rio Tietê* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Stroband, H. W. J., & Van Der Veen, F. H. (1981). Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of the grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Journal of Experimental Zoology*, 218(2), 149-156.
- Wilson, J. M., & Castro, L. F. C. (2010). Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In *Fish physiology* 30, 1-55.
- Xiong, D., Zhang, L., Yu, H., Xie, C., Kong, Y., Zeng, Y., Huo, B. & Liu, Z. (2011). A study of morphology and histology of the alimentary tract of *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Acta Zoologica*, 92(2), 161-169.

Yashpal, M., & Mittal, A. K. (2014). Serous goblet cells: The protein secreting cells in the oral cavity of a catfish, *Rita rita* (Hamilton, 1822) (Bagridae, Siluriformes). *Tissue and cell*, 46(1), 9-14.

Younis, E. M., Abdel-Warith, A. A., Al-Asgah, N. A., Ebaid, H., & Mubarak, M. (2013). Histological changes in the liver and intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to sublethal concentrations of cadmium. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(3), 833-841.