

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Djonath da Rocha Resende

**Varição no volume e no teor de água dos ovos de *Macrobrachium
olfersii* durante o desenvolvimento embrionário: efeito da radiação
ultravioleta B**

**Florianópolis
2019**

Djonath da Rocha Resende

Variação no volume e no teor de água dos ovos de *Macrobrachium olfersii* durante o desenvolvimento embrionário: efeito da radiação ultravioleta B

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa Evelise Maria Nazari, Dra
Co-orientadora: Heloisa Schramm da Silva, Dra

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Resende, Djonath da Rocha

Variação no volume e no teor de água dos ovos de
Macrobrachium olfersii durante o desenvolvimento
embrionário: efeito da radiação ultravioleta B / Djonath da
Rocha Resende ; orientadora, Evelise Maria Nazari,
coorientadora, Heloisa Schramm da Silva, 2019.

35 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,
2019.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. camarão de água doce; . 3.
embriogênese; . 4. parâmetros biométricos;. I. Nazari,
Evelise Maria. II. Silva, Heloisa Schramm da. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. IV. Título.

Djonath da Rocha Resende

Variação no volume e no teor de água dos ovos de *Macrobrachium olfersii* durante o desenvolvimento embrionário: efeito da radiação ultravioleta B

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Ciências Biológicas.

Florianópolis, 13 de novembro de 2019.

Prof. Carlos Roberto Zanetti, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Profa Evelise Maria Nazari, Dra
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof Carlos José de Carvalho Pinto
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa Eliane Cristina Zeni, Dra
Avaliadora
Escola Municipal Donícia Maria da Costa

Este trabalho é dedicado aos meus pais Adão e Lenita, pela dedicação na minha formação e a minha família, esposa Luzia e filhos Kauã e Erick, com carinho e apoio me motivaram a completar essa etapa em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Evelise Maria Nazari, por me aceitar no Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA) em 2013, acreditando no meu potencial. Sempre adorável e serena me proporcionou uma nova chance de completar meu objetivo.

À minha co-orientadora Heloisa Shramm da Silva, pessoa doce e paciente, se dedicou ao máximo para me ajudar no desenvolvimento do meu trabalho, explicando passo a passo o material e método para cumprir o objetivo do trabalho.

À Eliane Zeni que não mede esforços para me ajudar, foi também a primeira pessoa que tive contato no (LRDA).

Aos meus colegas de (LRDA) que compartilharam comigo o mesmo espaço de trabalho.

Ao Dr. Carlos José de Carvalho Pinto, que aceitou meu convite para participar da minha avaliação.

Ao Dr. Carlos Roberto Zanetti, coordenador do curso de Graduação em Ciências Biológicas, abriu as portas novamente para mim, me fazendo acreditar no meu potencial.

À minha esposa Luzia Silvino Resende, minha companheira, amiga meu braço direito, confio todo meu amor e carinho e sei que fez o possível e o impossível para me ver sempre sorrindo.

Aos meus filhos Kauã e Erick, que me proporcionaram um desafio, ser pai.

Aos meus pais Adão Tavares Resende e Lenita da Rocha Resende que dedicaram toda sua vida para me transformar no homem que sou.

Muito obrigados a todas as pessoas que participaram na minha vida acadêmica e me ajudaram, direta e indiretamente para tornar este trabalho possível.

RESUMO

Macrobrachium olfersii (Wiegmann, 1836) é uma espécie de camarão de água doce, que na Ilha de Santa Catarina habita e se reproduz preferencialmente em águas rasas e claras. Nesses ambientes, a intensidade de radiação ultravioleta (UV) é semelhante à radiação na superfície terrestre. As fêmeas de *M. olfersii* transportam os ovos em câmara incubadora durante 14 dias (a 24° C). O objetivo deste trabalho foi caracterizar o volume e o teor de água dos ovos de *M. olfersii* ao longo do desenvolvimento embrionário, bem como avaliar o efeito da radiação ultravioleta B (UVB) sobre esses parâmetros biométricos. Amostras de ovos foram obtidas em cada dia embrionário (E), de E1 a E14. Para determinar o volume do ovo foram obtidas as medidas dos eixos longitudinal e transversal dos ovos. O teor de água dos ovos foi obtido pela diferença entre a massa fresca e a massa seca, após 48 horas a 50°C. O índice do olho foi obtido pela medida média dos eixos longitudinal e transversal do olho. Para os experimentos com UV, as fêmeas foram irradiadas com lâmpada UVB 6 W por 30 minutos. Os ovos irradiados foram agrupados em E1-E4, E5-E8, E9-E11 e E12-E14. Ovos não irradiados foram usados como controle. Foram observadas variações no volume dos ovos durante os dias do desenvolvimento embrionário, sendo observadas variações significativas a partir de E8. Foi observado aumento significativo no volume do ovo no grupo irradiado E5-E8 ($0,048 \pm 0,012$), quando comparado ao controle ($0,042 \pm 0,005$; $p < 0,01$). O aumento do teor de água foi significativo nos grupos irradiados E1-E4 ($65,02 \pm 6,51$) em relação ao controle ($53,22 \pm 7,30$; $p < 0,05$) e em E5-E8 ($68,71 \pm 2,86$), quando comparado ao controle ($63,31 \pm 2,03$; $p < 0,01$). No índice do olho observou-se diminuição significativa no grupo irradiado E12-E14 ($124,10 \pm 15,94$), comparado ao controle ($141,06 \pm 9,40$; $p < 0,00001$). Neste trabalho os dados de biometria dos ovos e dos olhos dos embriões do camarão de água doce *M. olfersii* são importantes, para entendermos o comportamento do fluxo de água ao decorrer do desenvolvimento embrionário em condições normais e sob efeito da radiação UVB.

Palavras-chave: camarão de água-doce. Embriogênese. Parâmetros biométricos.

ABSTRACT

Macrobrachium olfersii (Wiegmann, 1836) is a species of freshwater prawn that inhabits and reproduces preferentially in shallow and clear waters. In these environments, the intensity of ultraviolet (UV) radiation is similar to radiation on the earth's surface. The *M. olfersii* females carry the eggs in a ventral and external brood pouch for 14 days (at 24° C). The aim of this study was to characterize the volume and water content of *M. olfersii* eggs during embryonic development, as well as to evaluate the effect of ultraviolet B (UVB) radiation on these biometric parameters. Egg samples were obtained on each embryonic day (E) from E1 to E14. To determine the egg volume, measurements of the longitudinal and transverse axes of the eggs were obtained. The water content of the eggs was obtained by the difference between fresh and dry mass after 48 hours at 50°C. Eye index was obtained by averaging the longitudinal and transverse axes of the eye. For the UV experiments, females were irradiated with a 6 W UVB lamp for 30 minutes. The irradiated eggs were grouped into E1-E4, E5-E8, E9-E11 and E12-E14. Non-irradiated eggs were used as controls. Variations in egg volume were observed during the days of embryonic development, and significant variations were observed from E8. Significant increase in egg volume was observed in the E5-E8 irradiated group (0.048 ± 0.012) when compared to the control (0.042 ± 0.005 ; $p < 0.01$). The increase in water content was significant in the irradiated groups E1-E4 (65.02 ± 6.51) in relation to the control (53.22 ± 7.30 ; $p < 0.05$) and in E5-E8 ($68, 71 \pm 2.86$), when compared to the control (63.31 ± 2.03 ; $p < 0.01$). In the eye index, a significant decrease was observed in the irradiated group E12-E14 (124.10 ± 15.94) compared to the control group (141.06 ± 9.40 ; $p < 0.00001$). In this study, egg and eye biometrics data of embryos of freshwater prawn *M. olfersii* are important to understand the behavior of water flow during embryonic development under normal conditions and under UVB radiation.

Keywords: Freshwater prawn. Embryogenesis. Biometrical parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fêmea adulta de <i>Macrobrachum olfersii</i>	1
Figura 2: Ovo de <i>Macrobrachium olfersii</i> com embrião em E7	8
Figura 3: Volume dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário (E1 a E14) de <i>Macrobrachium olfersii</i> . Valores apresentados em média (\pm desvio padrão). Asterisco indica diferença significativa com relação ao dia E1.....	10
Figura 4: Efeito da radiação UVB sobre o volume dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário de <i>Macrobrachium olfersii</i> . Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).....	13
Figura 5: Efeito da radiação UVB sobre o teor de água dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário de <i>Macrobrachium olfersii</i> . Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).....	14
Figura 6: Efeito da radiação UVB sobre índice do olho durante o desenvolvimento embrionário de <i>Macrobrachium olfersii</i> . Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).....	16

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Organização dos grupos experimentais compostos por ovos de *Macrobrachium olfersii* nas idades embrionárias de E1 a E14.....7

Quadro 2: Valores de p obtidos na análise comparativa de média (ANOVA One-way, seguida teste Tukey) do volume dos ovos durante 14 dias de desenvolvimento.....11

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BFC	Bromofluorcarbono
Br	Bromo
CFC	Clorofluorcarbono
Cl	Cloro
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>deoxyribonucleic acid</i>
E	Dia embrionário
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis
L	Eixo longitudinal
LRDA	Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal
MF	Massa fresca
MS	Massa seca
O	Átomo livre de oxigênio
O ₂	Molécula de oxigênio
O ₃	Molécula de ozônio
T	Eixo transversal
UV	Radiação ultravioleta
UVA	Radiação ultravioleta A
UVB	Radiação ultravioleta B
UVC	Radiação ultravioleta C

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo geral.....	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1 Obtenção dos camarões <i>M. olfersii</i>	6
3.2 Estagiamento dos embriões.....	6
3.3 Delineamento dos grupos experimentais	6
3.4 Determinação das medidas dos eixos e do volume dos ovos.....	7
3.5 Determinação do teor de água.....	8
3.6 Determinação do índice do olho.....	8
3.7 Organização dos dados e análise estatística.....	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
4.1 Análise do volume dos ovos no desenvolvimento embrionário de <i>M. olfersii</i>	9
4.2 Análise do volume dos ovos após a exposição à radiação UVB.....	12
4.3 Análise no teor de água dos ovos de <i>M. olfersii</i> exposto à radiação UVB..	13
4.4 Índice do olho no desenvolvimento embrionário de <i>M. olfersii</i> exposto à radiação UVB.....	14
5 CONCLUSÕES.....	17
6 REFERENCIAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

Macrobrachium olfersii (Wiegmann, 1836) é uma espécie de camarão de água doce, pertencente à família Palaemonidae, subfilo Crustacea, que se distribui desde o sudeste dos Estados Unidos até o litoral brasileiro, sendo encontrada com frequência em ambientes de água doce e estuários (BOND-BUCKUP e BUCKUP, 1989).

M. olfersii tem importância ecológica, participando na cadeia alimentar de aves e peixes, além de ser detritívoro e participar da ciclagem da matéria orgânica nos ecossistemas de água doce e estuarinos (MACIEL e VALENTI, 2009). Além disso, na Ilha de Santa Catarina, esta espécie habita e se reproduz preferencialmente nas margens rasas, com fundo de areia e cascalho (AMMAR et al., 2001), que possibilita a fácil captura para realização de estudos em condições de laboratório.

As fêmeas de *M. olfersii* (Figura 1) são pequenas em relação aos machos, pois atribui maior gasto energético para formar a câmara incubadora e postura dos ovos, além disso, incubam uma massa de ovos em uma câmara incubadora na região ventral até a eclosão (SHAKUNTALA, 1977; HARTNOLL, 1985).

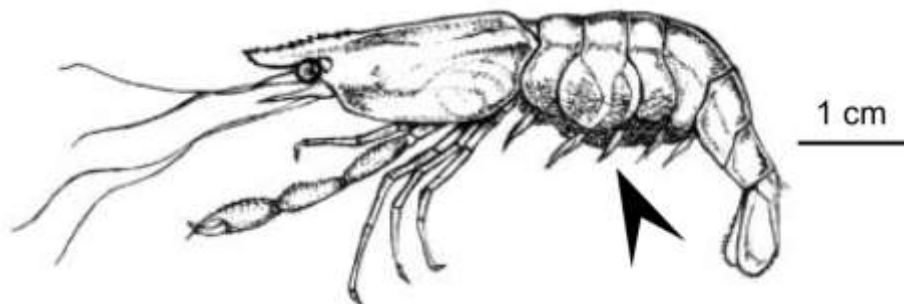


Figura 1: Ilustração de exemplar de fêmea adulta de *Macrobrachium olfersii*, com destaque para a câmara incubadora (seta) (NAZARI et al., 2003).

A fecundidade média de *M. olfersii* é de aproximadamente 1557 ovos (NAZARI et al., 2003) e o tempo de desenvolvimento embrionário de 14 dias a uma temperatura de 24 ± 1 (SIMÕES-COSTA et al., 2005). Os ovos de *M. olfersii* são pequenos e com formato arredondado; nos estágios iniciais, os

ovos apresentam tamanho médio de 0,361 mm no eixo transversal e 0,488 mm no eixo longitudinal e nos estágios finais apresentam tamanho de 0,458 mm no eixo transversal e 0,672 mm no eixo longitudinal (MÜLLER et al., 2004).

O tamanho e o volume dos ovos podem variar ao longo de todo desenvolvimento embrionário (MOSSOLIN e BUENO, 2002), essa variação do volume é resultante da entrada de água que facilita a mobilidade do embrião conferindo mais espaço para a organização estrutural e o crescimento do embrião (KOBAYASHI e MATSUURA, 1995). A entrada de água nos ovos se dá através do cório semi-permeável, que nos estágios iniciais apresenta-se mais espesso e tornando-se mais delgado ao longo do desenvolvimento (SIMÕES-COSTA et al., 2005). As variações no volume dos ovos dos crustáceos podem também estar relacionadas com as condições ambientais, sendo a temperatura e a salinidade fatores determinantes para o aumento do volume (STEELE e STEELE, 1975; BAS e SPIVAK, 2000). Além da temperatura e salinidade, o presente trabalho dará destaque à radiação solar ultravioleta (UV) como outro fator abiótico que pode interferir no volume dos ovos.

Nas últimas décadas muitos estudos estão sendo realizados para análise do aumento da radiação ultravioleta (UV) nos ecossistemas terrestres e aquáticos (KIRCHHOFF et al., 2000). A radiação UV que chega à superfície da terra é essencial para a manutenção da vida, pois participa dos processos biológicos, como fotossíntese e da síntese de vitamina D em humanos (DIFFEY, 1991). A radiação UV pertence ao espectro eletromagnético do sol, e de acordo com seu comprimento de onda e efeitos fotobiológicos, pode ser dividida em radiação ultravioleta C (UVC, 100 – 280 nm), radiação ultravioleta B (UVB, 280 – 315 nm) e ultravioleta A (UVA, 315 – 400 nm) (DIFFEY, 2002).

A radiação UVC tem menor comprimento de onda, sendo a mais energética do espectro UV e, portanto, totalmente atenuada na camada de ozônio, pois sua energia é totalmente utilizada nas reações fotoquímicas para a quebra e a formação da molécula de ozônio (O₃) (DIFFEY, 2002; HOCKBERGER, 2002). A radiação UVB é atenuada de forma parcial, pois 90% a 95% desta radiação participam na formação e dissociação da camada de ozônio, sendo a mais danosa para os seres vivos, podendo causar alterações nas proteínas e no DNA (HÄDER et al., 2003). A radiação UVA, por ser a

menos energética, não é atenuada na camada de ozônio e, portanto, atinge a superfície da terra, participando da fotossíntese e causando danos como o envelhecimento precoce da pele (GALLAGHER e LEE, 2006).

A intensidade da radiação UV que chega à superfície terrestre é diferenciada e influenciada por diversos fatores, tais como, estações do ano e hora do dia, a cobertura de nuvens, latitudes geográficas, altitude, reflexão em superfícies, aerossóis e gases emitidos decorrentes de queimadas e ozônio estratosférico (DIFFEY, 1991). Nos ambientes aquáticos, a incidência da radiação UV pode variar de acordo com a transparência e profundidade da coluna d'água (HERNDL et al., 1999). Por sua vez, nestes ambientes a radiação UV pode penetrar a uma profundidade de 70 m em águas claras (SMITH et al., 1992; BAN et al., 2007). Em ambientes aquáticos de águas rasas e claras a intensidade de radiação UV pode chegar com intensidade semelhante aquela da superfície terrestre (BANCROFT et al., 2007; SHANKLIN, 2010).

A camada de ozônio é responsável pela diminuição da incidência da radiação UV na superfície terrestre, atenuando os comprimentos de onda prejudiciais aos organismos, antes que chegue à superfície da terra (HÄDER, 2007). Na estratosfera o ozônio é formado e dissociado constantemente pela ação da radiação UV, criando uma molécula oxigênio (O_2) e átomo O livre (ROWLAND, 2006).

Nos os anos 1970, os pesquisadores Molina e Rowland, (1974) alertaram para a diminuição da camada de ozônio influenciada pela emissão de compostos clorofluorcarbono (CFC) e bromofluorcarbono (BFC). O CFC e BFC, também são dissociados pela radiação UV e se tornam átomos livres, tais como Cloro (Cl) e Bromo (Br), estes átomos impedem a formação de novas moléculas de O_3 , diminuindo a concentração deste gás, contribuindo assim para o aumento da radiação UVB na superfície da terra (DIAZ et al., 2006).

Por volta dos anos 1980 com a queda na concentração de O_3 , estudos mostram o surgimento do buraco de ozônio antártico (para maiores detalhes, veja revisão de ANDRÉ, 2002), sendo que seus efeitos não ficam restritos na região antártica, podendo apresentar uma diminuição na concentração de O_3 em baixas latitudes, como na América do Sul (KIRCHHOFF et al., 1996). O deslocamento da massa pobre em O_3 da região antártica promove uma queda

temporária de O₃ para região sul do Brasil, este efeito é caracterizado como efeito secundário do buraco de ozônio (SEMANE et al., 2006).

O Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA) desenvolve pesquisas focadas nas alterações causadas pela radiação UVB, utilizando como modelo biológico, o camarão de água doce *M. olfersii*. Os estudos realizados pela equipe do LRDA abordam o efeito da radiação UVB, como alterações morfológicas, redução da proliferação celular e indução de estresse oxidativo (NAZARI et al., 2010; 2013); danos no DNA pela formação de dímeros de pirimidina (ZENI et al., 2015); alteração da estrutura da membrana mitocondrial (QUADROS et al., 2016); indução à apoptose (SCHRAMM et al., 2017); alteração nos parâmetros morfológicos dos ovos (MÜLLER et al., 2018).

Tendo em vista os diferentes efeitos causados pela radiação UVB, este trabalho traz como hipótese que esta radiação promove aumento no volume e no teor de água dos ovos de *M. olfersii*, ao longo do desenvolvimento embrionário.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Caracterizar o volume e o teor de água dos ovos de *M. olfersii* ao longo do desenvolvimento embrionário, bem como avaliar o efeito radiação UVB sobre esses parâmetros biométricos.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar o estagiamento do desenvolvimento visando para relacionar os parâmetros biométricos com as características do desenvolvimento;
- Verificar o efeito da radiação UVB no volume dos ovos;
- Calcular o teor de água dos ovos durante os estágios do desenvolvimento embrionário em condições normais e após exposição à radiação UVB;
- Determinar o índice do olho durante os estágios finais do desenvolvimento embrionário visando reconhecer os ritmos do desenvolvimento em condições normais e após exposição à radiação UVB.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção dos camarões *M. olfersii*

Os camarões foram coletados no Parque municipal da Lagoa do Peri em Florianópolis/SC. Após as coletas, os camarões foram transportados do ambiente natural para o Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (LRDA)/BEG/CCB/UFSC em aquário portátil de 16 litros com água do ambiente, com aeração constante. Os procedimentos para a coleta foram aprovados pela Agência Nacional de Meio Ambiente (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, número 15.294-1/IBAMA/2008). Para viabilizar a reprodução em condições de laboratório, os camarões foram distribuídos na proporção de 1 macho: 3 fêmeas, favorecendo a realização da cópula e obtenção das fêmeas ovígeras e dos ovos para as análises deste trabalho.

Para manutenção dos camarões no laboratório foram realizadas várias coletas no período de 3 anos. O procedimento de coletas periódicas foi viável para manter o número de fêmeas ovígeras para pesquisa, pois *M. olfersii* completa seu ciclo de vida em águas estuarinas, dificultando a criação da segunda geração de camarões no laboratório.

3.2. Estagiamento dos embriões

Amostras de ovos ($n = 5$ ovos/E/fêmea; $N = 7$ fêmeas) foram retiradas das fêmeas ovígeras e visualizadas ao estereomicroscópio (aumento 50X) para identificar o estágio de desenvolvimento embrionário, de acordo com o estagiamento por dia embrionário (E), onde cada E corresponde a 24 horas de desenvolvimento. Os ovos foram analisados *in vivo* para a visualização das características externas do embrião de acordo com Simões-Costa et al.(2005).

3.3. Delineamento dos grupos experimentais

As análises realizadas neste estudo foram divididas em duas etapas:

- **Etapa I** – para análise dos parâmetros biométricos dos ovos e embriões ao longo dos 14 dias de desenvolvimento embrionário de E1 a E14;

- **Etapa II** - para análise dos parâmetros biométricos dos ovos e embriões após exposição à radiação UVB. Nesta etapa, os embriões foram subdivididos em 8 grupos (Quadro 1).

Quadro 1: Organização dos grupos experimentais compostos por ovos de *M. offersii* nas idades embrionárias de E1 a E14.

Grupos	Dias embrionários (N = 7 fêmeas/grupo)	Condição
1	E1 a E4	Controle
2		Irradiado UVB
3	E5 a E8	Controle
4		Irradiado UVB
5	E9 a E11	Controle
6		Irradiado UVB
7	E12 a E14	Controle
8		Irradiado UVB

Para os grupos 2, 4, 6 e 8 foram adotados os procedimentos de irradiação, sendo as fêmeas ovígeras transferidas para aquário escuro de 20 L com coluna d'água de 16 cm e com uma lâmpada UVB de 6 W, marca Vilber Lourmat. As fêmeas foram irradiadas por 30 minutos, com irradiância de 310 mW.cm⁻², semelhante à irradiação natural no sul do Brasil na época reprodutiva do *M. offersii* (NAZARI et al., 2010). As fêmeas ovígeras foram mantidas em ambiente escuro após a irradiação e analisados após 24 horas.

3.4. Determinação das medidas dos eixos e do volume dos ovos

As medidas dos eixos longitudinal (mm) e transversal (mm) dos ovos (Figura 2) foram obtidas com auxílio de ocular micrométrica acoplada ao microscópio de luz (40 X) (n = 5 ovos/E/fêmea; N = 7 fêmeas). Para o cálculo do volume dos ovos foi utilizada a fórmula $V = \pi LT^2/6$, onde (L) corresponde ao eixo longitudinal e (T) corresponde ao eixo transversal do ovo (ODINETZ-COLLART e RABELO, 1996). Os valores obtidos foram expressos em mm³.



Figura 2: Ovo de *Macrobrachium olfersii* com embrião em E7 (*in vivo*, aumento 70X), destacando as medidas dos eixos longitudinal (azul) e transversal (vermelho). (Imagem cedida por Giuliam K. Strücker - LRDA)

3.5. Determinações do teor de água dos ovos

A massa fresca (MF) das amostras de ovos (N = 7 fêmeas) foi obtida em balança de precisão 0,01 g. Em seguida, as amostras foram colocadas na estufa a 50°C por 28 horas, após o que foi obtida a massa seca (MS) dos ovos. Para o cálculo do teor de água dos ovos foi utilizada a fórmula: $(MF - MS) \times 100$. (WEHRTMANN e KATTNER, 1998). Os valores obtidos foram expressos em %.

3.6. Determinações do índice do olho

Para determinar o índice do olho foram realizadas medidas dos eixos (mm) longitudinal (L) e transversal (T) de um dos olhos dos embriões com morfologia normal de E7 a E14. O olho é uma estrutura embrionária que se torna visível externamente a partir de E7. As medidas foram obtidas com ocular micrométrica acoplada ao microscópio de luz (40 X) (n = 5 ovos/E/fêmea; N = 7 fêmeas). O índice do olho foi obtido através da fórmula $(L + T)/2$ (PERKINS, 1972). Os valores obtidos foram expressos em mm.

3.7. Organização dos dados e análise estatística

Os dados quantitativos foram organizados em tabelas Excel e a análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica, versão 10. Após o teste de normalidade, os dados referentes aos grupos experimentais foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguida do teste *post-hoc* de Tukey, sendo considerado significativo o valor de $p < 0,05$. Os dados foram apresentados em valores de média \pm desvio padrão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise do volume dos ovos no desenvolvimento embrionário de *M. offersii*

Na análise do volume dos ovos de *M. offersii* foram observadas variações durante os dias do desenvolvimento embrionário (Figura 3). Entre os dias E1 ($0,041 \pm 0,009$), E2 ($0,036 \pm 0,006$), E3 ($0,041 \pm 0,005$), E4 ($0,06 \pm 0,001$), E5 ($0,041 \pm 0,006$), E6 ($0,41 \pm 0,003$) e E7 ($0,05 \pm 0,003$) não houve diferença significativa. No entanto, as variações significativas no volume dos ovos foram observadas a partir de E8 ($0,046 \pm 0,006$), E9 ($0,050 \pm 0,007$), E10 ($0,054 \pm 0,006$), E11 ($0,058 \pm 0,001$), E12 ($0,059 \pm 0,007$), E13 ($0,059 \pm 0,009$) e E14 ($0,059 \pm 0,010$) (Figura 3; Quadro 2).

Os resultados acima apresentados mostram que as variações significativas no volume dos ovos coincidem com o início da formação dos olhos, reconhecível externamente a partir de E7. Além disso, nos estágios E8 a E14 há um aumento da complexidade das estruturas embrionárias e as variações podem estar associadas ao início da organogênese (MÜLLER et al., 1999; SIMÕES-COSTA et al., 2005). Em espécies de crustáceos, aumento do volume dos ovos durante o desenvolvimento é comum (PINHEIRO e HATTORI, 2002), sendo que o diâmetro dos ovos tende a aumentar até à eclosão (ODINETZ-COLLART e RABELO, 1996; NARCISO e MORAIS, 2001). Em camarões de água doce da família Palaemonidae, o crescimento dos eixos dos ovos difere nos últimos estágios de desenvolvimento, tornando a forma do ovo mais elíptica (MÜLLER et al., 2004).

As variações no volume e na forma dos ovos nos estágios iniciais podem estar associadas com a espessura do cório, esta característica pode impedir o aumento do volume de forma que comprometa o desenvolvimento normal do embrião. No presente trabalho foi verificado que, quando o volume do ovo começa a ter um aumento significativo (E8), nota-se o batimento cardíaco irregular, como descrito por Simões-Costa et al., (2005). O início dos batimentos cardíacos embrionário pode levar a uma captação mais rápida de água e, portanto, promover um aumento no volume dos ovos (WEAR, 1974).

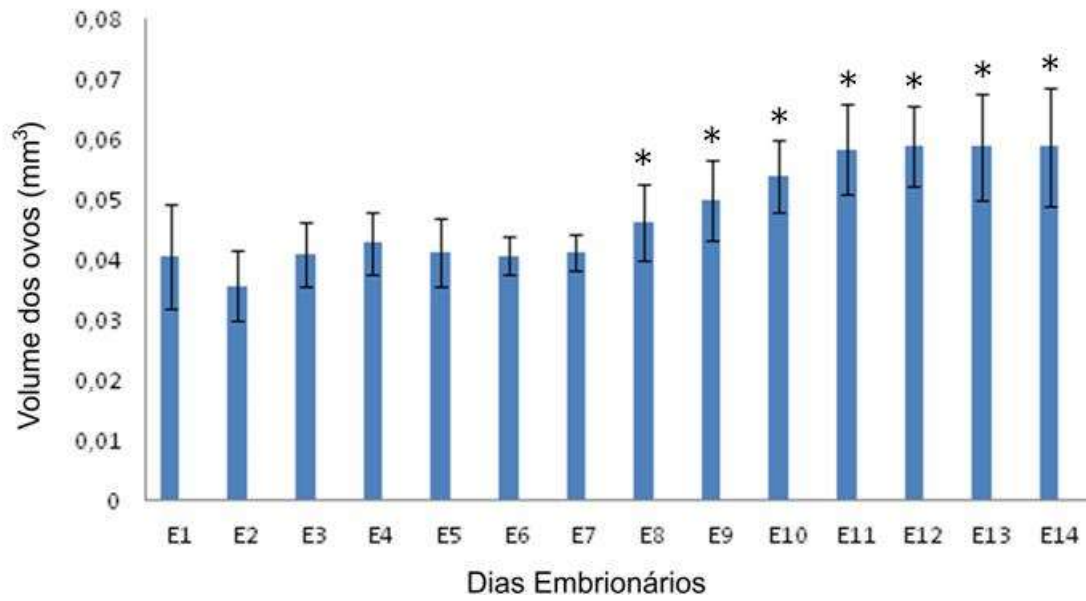


Figura 3: Volume dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário (E1 a E14) de *Macrobrachium olfersii*. Valores apresentados em média (\pm desvio padrão). Asterisco indica diferença significativa com relação ao dia E1.

Quadro 2: Valores de p obtidos na análise comparativa de média (ANOVA One-way, seguida teste Tukey) do volume dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário de *Macrobrachium olfersii*.

		Dias embrionários													
		E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14
Dias embrionários	E1		0,09900	1,00000	0,98440	1,00000	1,00000	1,00000	0,02418	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E2	0,09972		0,05514	0,00059	0,02734	0,08705	0,02513	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E3	1,00000	0,05514		0,99799	1,00000	1,00000	1,00000	0,06345	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E4	0,98440	0,00059	0,99799		0,99957	0,98866	0,99967	0,63298	0,00040	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E5	1,00000	0,02734	1,00000	0,99957		1,00000	1,00000	0,09014	0,00003	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E6	1,00000	0,08705	1,00000	0,98866	1,00000		1,00000	0,02850	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E7	1,00000	0,02513	1,00000	0,99967	1,00000	1,00000		0,09665	0,00003	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E8	0,02418	0,00002	0,06345	0,63298	0,09014	0,02850	0,09665		0,48810	0,00015	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002
	E9	0,00002	0,00002	0,00002	0,00040	0,00003	0,00002	0,00003	0,48810		0,46893	0,00003	0,00002	0,00002	0,00003
	E10	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00015	0,46893		0,17205	0,08095	0,07693	0,09624
	E11	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00003	0,17205		1,00000	1,00000	1,00000
	E12	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,08095	1,00000		1,00000	1,00000
	E13	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,07693	1,00000	1,00000		1,00000
	E14	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00003	0,09624	1,00000	1,00000	1,00000	

Casas em azul correspondem à análise do mesmo dia embrionário, portanto não há valor de P obtido.

Números em vermelho correspondem a valores de $p < 0,05$.

Números em preto correspondem a valores de $p > 0,05$.

4.2. Análise do volume dos ovos após a exposição à radiação UVB

Para melhor compreender o efeito da radiação UVB no volume dos ovos ao longo do desenvolvimento embrionário de *M. olfersii*, realizou-se o agrupamento dos dias embrionários. Entre E1-E4 não foi observado aumento significativo do volume dos ovos expostos à radiação UVB ($0,042 \pm 0,008$), quando comparado ao respectivo controle ($0,040 \pm 0,007$). Neste aspecto, embriões irradiados e não irradiados não demonstraram mudanças significativas relacionadas ao volume dos ovos, o que nos leva a pensar que o aumento do volume de água parece estar mais relacionado com os estágios do desenvolvimento embrionário.

No grupo E5-E8, os ovos expostos à radiação UVB ($0,048 \pm 0,012$) apresentaram aumento significativo do volume, quando comparado ao controle ($0,042 \pm 0,005$; $p < 0,01$). No grupo E9-E11, o volume dos ovos não apresentou variação significativa no grupo irradiado com UVB ($0,056 \pm 0,007$), quando comparado ao controle ($0,054 \pm 0,001$). No grupo E12-E14, não houve variação significativa do volume dos ovos expostos à radiação UVB ($0,062 \pm 0,005$), quando comparado ao controle ($0,059 \pm 0,008$) (Figura 4).

Os resultados acima apresentados mostram que ovos entre E5-E8 expostos à radiação UVB apresentam aumento no seu volume. Contudo, esse aumento não está somente associado ao crescimento do embrião, pois esse foi o único grupo de ovos onde a radiação foi danosa (NAZARI et al., 2010).

Estudos com equinodermos mostraram os efeitos negativos da radiação UVB em espermatozoide, ovo e larvas (NAHON et al., 2007) e nos estágios iniciais do desenvolvimento embrionário, ocorre dano no estágio de blástula, de modo a inibir ou retardar a gastrulação (BONAVENTURA et al., 2005).

Os organismos aquáticos possuem mecanismos de defesa para reparar e evitar danos causados pela radiação UV, tais como: os carotenoides que absorvem radiação UVA e parte da UVB, os cromatóforos aparecem em E7, tem função de degradar a radiação UV (DETHLEFSEN et al., 2001, CARDOSO, 2011), o fotorreparo mediado pela enzima fotoliase (ZENI, 2017) e a apoptose (morte celular programada).

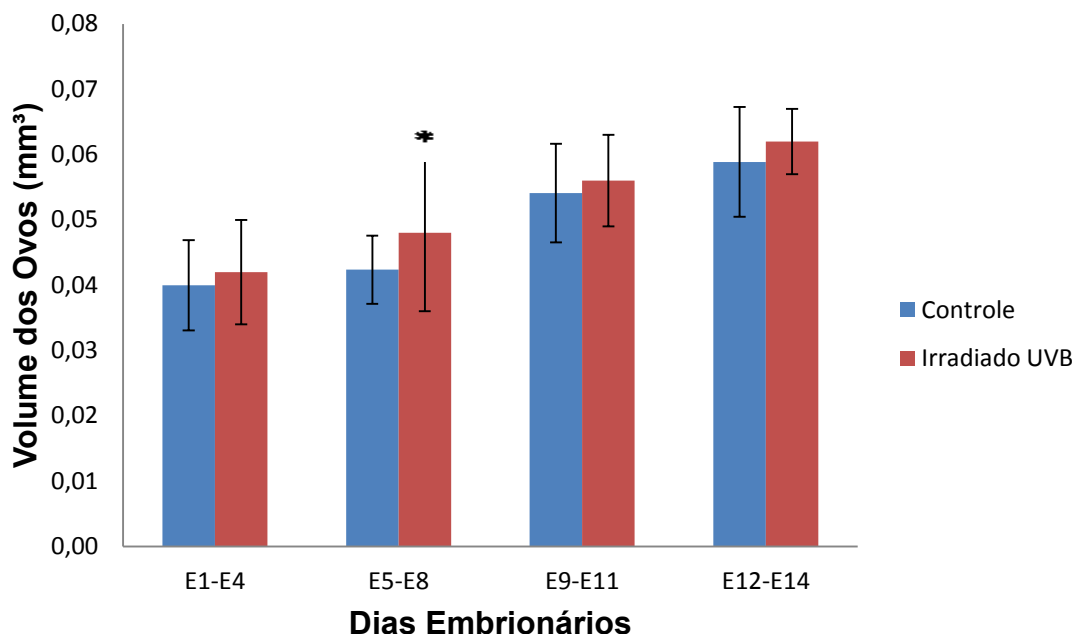


Figura 4: Efeito da radiação UVB sobre o volume dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário de *Macrobrachium olfersii*. Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).

4.3. Análise do teor de água dos ovos de *M. olfersii* exposto à radiação UVB

Após a exposição à radiação UVB observou-se um aumento significativo no teor água dos ovos no grupo E1-E4 ($65,02 \pm 6,51$), com relação ao controle ($53,22 \pm 7,30$; $p < 0,05$). No grupo E5-E8 houve um aumento significativo no teor de água dos ovos irradiados ($68,71 \pm 2,86$), quando comparado ao controle ($63,31 \pm 2,03$; $p < 0,01$). No grupo E9-E11, a radiação UVB não afetou o teor de água dos ovos ($70,52 \pm 2,34$), quando comprado ao controle ($71,63 \pm 2,5$). No grupo E12- E14 não houve diferença significativa no teor de água nos ovos expostos à radiação UVB ($77,24 \pm 1,28$) em relação ao controle ($77,25 \pm 0,51$) (Figura 5).

Os estudos de Nazari et al., (2010) e Cardoso, (2011) evidenciaram que os ovos de *M. olfersii* expostos à radiação UVB apresentaram um aumento

significativo no teor de água em relação ao controle. Os resultados significativos foram observados na primeira metade do desenvolvimento, o que pode estar relacionado à menor complexidade das estruturas embrionárias, de acordo com as descrições das características do desenvolvimento da espécie estudada (MÜLLER et al., 2004). Em *M. offersii* as estruturas embrionárias tendem a ter uma crescente e gradual complexidade (MÜLLER et al., 1999, SIMÕES-COSTA et al., 2005). Assim, nos estágios mais iniciais espera-se que os embriões tenham poucas estratégias de defesa contra os efeitos da radiação UVB, a exemplo da imaturidade dos cromatóforos, que são células que protegem o embrião dessa radiação (ZENI et al., 2015).

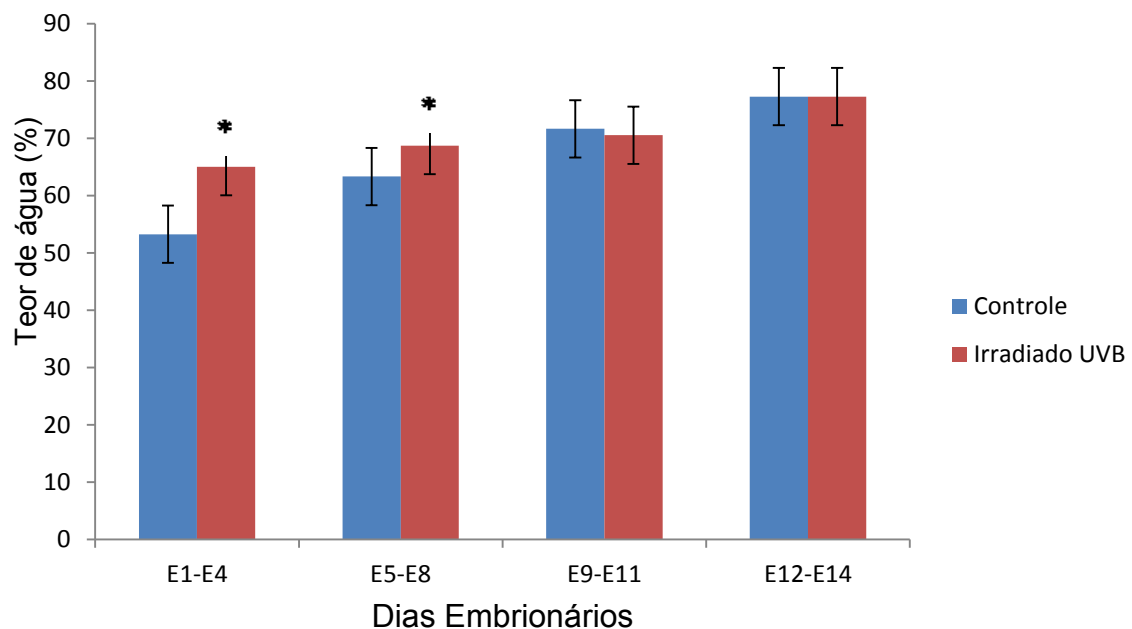


Figura 5: Efeito da radiação UVB sobre o teor de água dos ovos durante os 14 dias de desenvolvimento embrionário de *Macrobrachium offersii*. Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).

4.4. Índice do olho no desenvolvimento embrionário de *M. offersii* exposto à radiação UVB

O índice do olho foi avaliado em três grupos E7-E8, E9-E11 e E12-E14, isto porque os embriões não apresentam olho até a idade E6. Na análise do índice do olho dos embriões irradiados, observou-se que os dois primeiros grupos avaliados não apresentaram diferença em relação ao controle. Assim,

o valor médio do índice do olho no grupo E7-E8 foi de 60,75 (\pm 9,90) para os controles e de 66,64 (\pm 20,36) para os irradiados. No grupo E9-E11, os embriões do grupo controle apresentaram índice do olho médio de 98,23 (\pm 19,25) e os embriões irradiados de 94,43 (\pm 12,65). No grupo E12-E14, os resultados revelaram diferença significativa entre o grupo irradiado (124,10 \pm 15,94), comparado ao controle (141,06 \pm 9,40) ($p < 0,00001$) (Figura 6).

A idade embrionária E7 em *M. olfersii* corresponde a 50% do desenvolvimento desta espécie, onde nota-se o início da pigmentação do olho e início organização das estruturas embrionárias internas, tais como o coração e o intestino médio. Segundo Perkins, (1972), o índice do olho correlaciona o desenvolvimento diário do olho com o desenvolvimento das estruturas embrionárias internas. Assim, a partir da análise de uma estrutura externa é possível inferir sobre o desenvolvimento de uma estrutura interna.

Para a obtenção do índice do olho foram considerados apenas os embriões que apresentavam olho com morfologia aparentemente normal. A radiação UVB causa dano no desenvolvimento dos olhos, alterando sua forma como descrito por Nazari et al., (2010). Entretanto, Nazari et al., (2010) e Müller et al., (2018) não observaram diferenças significativas no índice do olho entre embriões irradiados e controles. Possivelmente, a obtenção das medidas somente em embriões com olhos com morfologia normal, adotada nesses trabalhos, pode ter influenciado nos resultados obtidos, o que leva a necessidade de reinterpretação dos resultados após a exposição à radiação UVB.

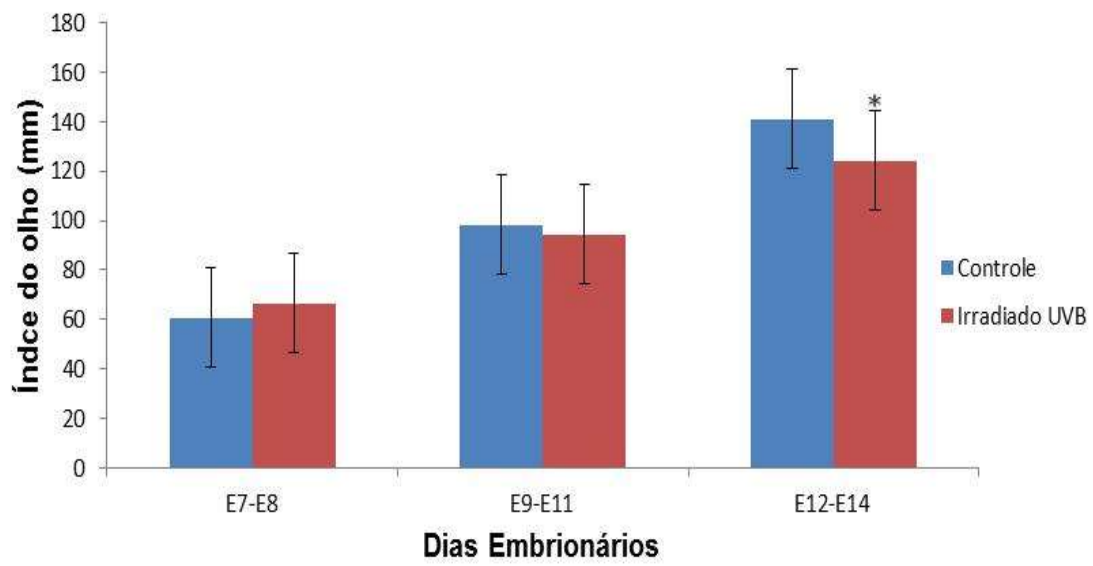


Figura 6: Efeito da radiação UVB sobre índice do olho durante o desenvolvimento embrionário de *Macrobrachium olfersii*. Valores apresentados em média (\pm desvio padrão).

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho os dados obtidos em relação à biometria dos ovos e dos olhos dos embriões do camarão de água doce *M. olfersii* nos permitiram concluir que:

- Ao longo do desenvolvimento embrionário houve um aumento gradual no volume do ovo;

- A radiação UVB provocou aumento no volume do ovo de forma significativa no estágio E5-E8;

- A radiação UVB promoveu aumento significativo no teor de água nos estágios E1-E4 e E5-E8;

- A radiação UVB promoveu redução significativa no índice do olho dos embriões apenas em E12-E14.

REFERÊNCIAS

- Ammar, D.; Müller, Y. M. R.; Nazari, E. M. 2001. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium olfersii* (Wiegman) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) coletados na Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18: 529-537.
- André, I. R. N. C. 2002. Evolução dos conhecimentos científicos sobre o gás ozônio ao longo dos séculos XIX e XX. *Geografia*, 27: 22-40.
- Ban, S.; Ohi, E.; Leong, S. C. Y.; Takahashi, K. T.; Riser, C.W.; Taguchi, S. 2007. Effect of solar ultraviolet radiation on survival of krill larvae and copepods in the Antarctic Ocean. *Polar Biology*, 30: 1295–1302.
- Bancroft, B. A.; Baker, N. J.; Blaustein, A. R. 2007. Effects of UVB radiation on marine and freshwater organisms: a synthesis through meta-analysis. *Ecology Letters*, 10: 332-345.
- Bas, C. C.; Spivak, E. D. 2000. Effect of salinity on embryos of two southwestern atlantic estuarine grapsidae crab species cultured *in vitro*. *Journal of Crustacean Biology*, 20: 647-656.
- Bonaventura, R.; Poma, V.; Costa, C.; Matranga, V., 2005. UVB radiation prevents skeleton growth and stimulates the expression of stress markers in sea urchin embryos. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 328: 150–157.
- Bond-Buckup, G.; Buckup, L. 1989. Os Palaemonidae de águas continentais do Brasil Meridional (Crustacea, Decapoda). *Revista Brasileira de Biologia*, 49: 883-896.
- Cardoso, V. M. 2011. Efeitos da radiação ultravioleta-A e ultravioleta-B sobre os embriões do camarão de água-doce *Macrobrachium olfersi* (Crustacea, Decapoda) e o papel da radiação ultravioleta-A na fotorreativação. Dissertação de mestrado para a obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento, UFSC. 105p.

- Dethlefsen, V.; Westernhagen, H. V.; Hansen H. T. P. D.; Dizer, H. 2001. Influence of solar ultraviolet-B on pelagic fish embryos: osmolality, mortality and viable hatch. *Helgoland Marine Research*, 55: 45–55.
- Díaz, S.; Camilión, C.; Deferrari, G.; Fuenzalida, H.; Armstrong, R.; Booth, C.; Paladini, A.; Cabrera, S.; Casiccia, C.; Lovengreen, C.; Pedroni, J.; Rosales, A.; Zagarese, H.; Vernet, M. 2006. Ozone and UV radiation over Southern South America: climatology anomalies. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 834-843.
- Diffey, B. L. 1991. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems. *Review in Physics in Medicine and Biology*, 36: 299-328.
- Diffey, B. L. 2002. What is light? *Photodermatology, Photoimmunology, Photomedicine*, 18: 68-74.
- Gallagher, R. P.; Lee, T. K. 2006. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. *Progress in Biophysics Molecular Biology*, 92:119-131.
- Häder, D. P.; Kumar, H. D.; Smith, R. C.; Worrest, R. C. 2003. Aquatic ecosystems: effects of solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic change factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2: 39–50
- Häder, D. P.; Kumar, H. D.; Smith, R. C.; Worrest, R. C. 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interaction with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6: 267-285.
- Hartnoll, R. G. 1982. Growth, In: Abele L.G. *Embryology, Morphology and Genetics*. New York, Academic Press, 439p.
- Herndl, G. J.; Arrieta, J. M.; Kaiser, E.; Obernosterer, I.; Pausz, C.; Reitner, B.1999. Role of ultraviolet radiation in aquatic systems: interaction between mixing processes, photochemistry and microbial activity. In: *Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*. Bell C.R., Brylinsky M., Johnson-Green P. (eds.). Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.
- Hockberger, P. E. 2002. A History of Ultraviolet Photobiology for Humans, Animals and Microorganisms. *Photochemistry and Photobiology. Invited Review*, 76: 561–579.

- Kirchhoff, V. W., J. H.; Schuch, N. J.; Pinheiro, D. K.; Harris, J. M. 1996. Evidence for an Ozone Hole Perturbation at 30° South. *Atmospheric Environment*, 30: 1481-1488.
- Kirchhoff, V. W., J. H.; Echer, E.; Leme, N. P.; Silva, A. A. 2000. A variação sazonal da radiação ultravioleta solar biologicamente ativa. *Brazilian Journal of Geophysics*, 18: 63-74.
- Kobayashi, S.; Matsuura, S. 1995. Egg development and variation of egg size in the Japanese mitten crab *Eriocheir japonicus* (De Haan). *Benthos Research*, Kumamoto, 48: 29-39.
- Maciel, C. R.; Valenti, W. C. 2009. Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. *Nauplius*, 17: 61-79.
- Molina, M. J., Rowland, F.S. 1974. Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalyzed destruction of ozone. *Nature*, 249: 810-812.
- Mossolin, E. C.; Bueno, S. L. S. 2002. Reproductive biology of *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brasil. *Journal of Crustacean Biology*, 22: 367-376.
- Müller, Y. M. R., Ammar, D., Nazari, E. M. 2004. Embryonic development of four species of Palaemonid prawns (Crustacea, Decapoda): pre-naupliar, naupliar and post-naupliar periods. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21: 27-32.
- Müller, Y. M. R.; Quadros, T.; Schramm, H.; Wess, V. M. C.; Zeni, E. C.; Nazari, E. M.; Ammar, D. 2018. Biometrical and Morphological analyses of *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) embryos exposed to UVA and UVB radiation. *Nauplius*, 26: 2018013.
- Müller, Y. M. R.; Nazari, E. M.; Ammar, D.; Ferreira, E. C. 1999. Biologia dos Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) da bacia hidrográfica de Ratonés, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16: 629-636.
- Nahan, S.; Porras, V. C.; Pruski, A. M.; Charles, F. 2007. Sensitivity to UV radiation in early life stages of the Mediterranean sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Lamarck). *Science of the Total Environment*, 407: 1892-1900.

- Narciso, L.; Moraes, S. 2001. Fatty acid profile of *Palaemon serratus* (Palaemonidae) eggs and larvae during embryonic and larval development using different live diets. *Journal of Crustacean Biology*, 21: 566-574.
- Nazari, E. M., Ammar, D., Müller, Y. M. R., Allodi, S. 2013. Impacts of ultraviolet-B radiation on aquatic embryos. In: *Exploring themes on aquatic toxicology*. *Research Signpost*, 1: 103-118.
- Nazari, E. M.; Ammar, D.; Bem, A. F.; Latini, A.; Müller, Y. M. R. and Allodi, S. 2010. Effects of environmental and artificial UV-B radiation on freshwater prawn *Macrobrachium olfersi* embryos. *Aquatic Toxicology*, 98: 25–33.
- Nazari, E. M.; Simões-Costa, M. S.; Muller, Y. M. R.; Ammar, D.; Dias, M. 2003. Comparisons of fecundity, egg mass volume of the freshwater prawns *Macrobrachium potiuna* and *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 23: 862-868.
- Odinetz-Collart, O.; Rabelo, H. 1996. Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 16: 684-688.
- Perkins, H. C. 1972. Developmental rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*Homarus americanus* Milne – Edwards). *Fishery Bulletin*, 70: 95-99.
- Pinheiro, M. A. A.; Hanttori, G. Y. 2002. Embriologia do siri *Arenaeus cribrarius* (Lamarck) (Crustacea, Brachyura, Portunidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 19: 571-583.
- Quadros, T.; Schramm, H.; Zeni, E.; Simioni, C.; Allodi, S.; Müller, Y.; Ammar, D.; Nazari, E. 2016. Developmental effects of exposure to ultraviolet B radiation on freshwater prawn *Macrobrachium olfersi*: mitochondria as target of environmental UVB radiation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132: 279-287.
- Rowland, S. F. 2006. Stratospheric ozone depletion. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 361: 769-790.
- Schramm, H.; Jaramillo, M. L.; Quadros, T.; Zeni, E.; Müller, Y. M. R.; Ammar, D.; Nazari, E.M. 2017. Effect of UVB radiation exposure in the expression of

- genes and proteins related to apoptosis in freshwater prawn embryos. *Aquatic Toxicology*, 191: 25-33.
- Semane, N.; Bencherif, H.; Morel, B.; Hauchecorne, A.; Diab, R. D. 2006. An unusual stratospheric ozone decrease in Southern Hemisphere subtropics linked to isentropic air-mass transport as observed over Irene (25.5° S, 28.1° E) in mid-May 2002. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 6: 1927-1936.
- Simões- Costa, M. S.; Pacheco, C.; Nazari, E. M.; Muller, Y. M. R.; Ammar, D. 2005. Estagiamento de embriões de *Macrobrachium olfersii* (Wiegman) (Crustacea, Palaemonidae) através de critérios morfológicos nos dias embrionários. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22: 501-508.
- Shakuntala, K. 1977. The relation between body size and number of eggs in the freshwater prawn *Macrobrachium lamarrei* (Decapoda, Caridae). *Crustaceana*, 33: 17-21.
- Shanklin, J. 2010. Reflections on the ozone hole. *Nature*, 465: 34-35.
- Smith, R. C.; Prezelin, B. B.; Baker, K. S.; Bidigare, R. R.; Boucher, N. P.; Coley, T.; Karentz, D.; MacIntyre, S.; Matlick, H. A.; Menzies, D.; Ondrusek, M.; Wan, Z.; Waters, K. J. 1992. Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science*, 255: 952-59.
- Steele, D.; Steele, V. 1975. Egg size and duration of embryonic development in Crustacea. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 60: 711-715.
- Wear, R. G. 1974. Incubation in British Decapod Crustacea, and the effects of temperature on the rate and success of embryonic development. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 54: 745-762.
- Wehrtmann, I. S.; Kattner, G. 1998. Chang and volume, biomass, and fat acids of developing eggs in *Nauticarid magellanica* (Decapoda: Caridea): a latitudinal comparison. *Journal of Crustacean Biology*, 18: 343-348.
- Zeni, E. C.; Ammar, D.; Leal, M. L.; Silva, H. S.; Allodi, S.; Müller, Y. M. R.; Nazari, E. M. 2015. Light-mediated DNA repair prevents UVB-induced cell cycle arrest in embryos of the crustacean *Macrobrachium olfersii*. *Photochemistry and Photobiology*, 91: 869-878.

Zeni, E. C. 2017. Fotorreparo mediado pela fotoliase aos danos de DNA induzidos pela radiação ultravioleta B em embriões de *Macrobrachium olfersii*. Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina, 91p.