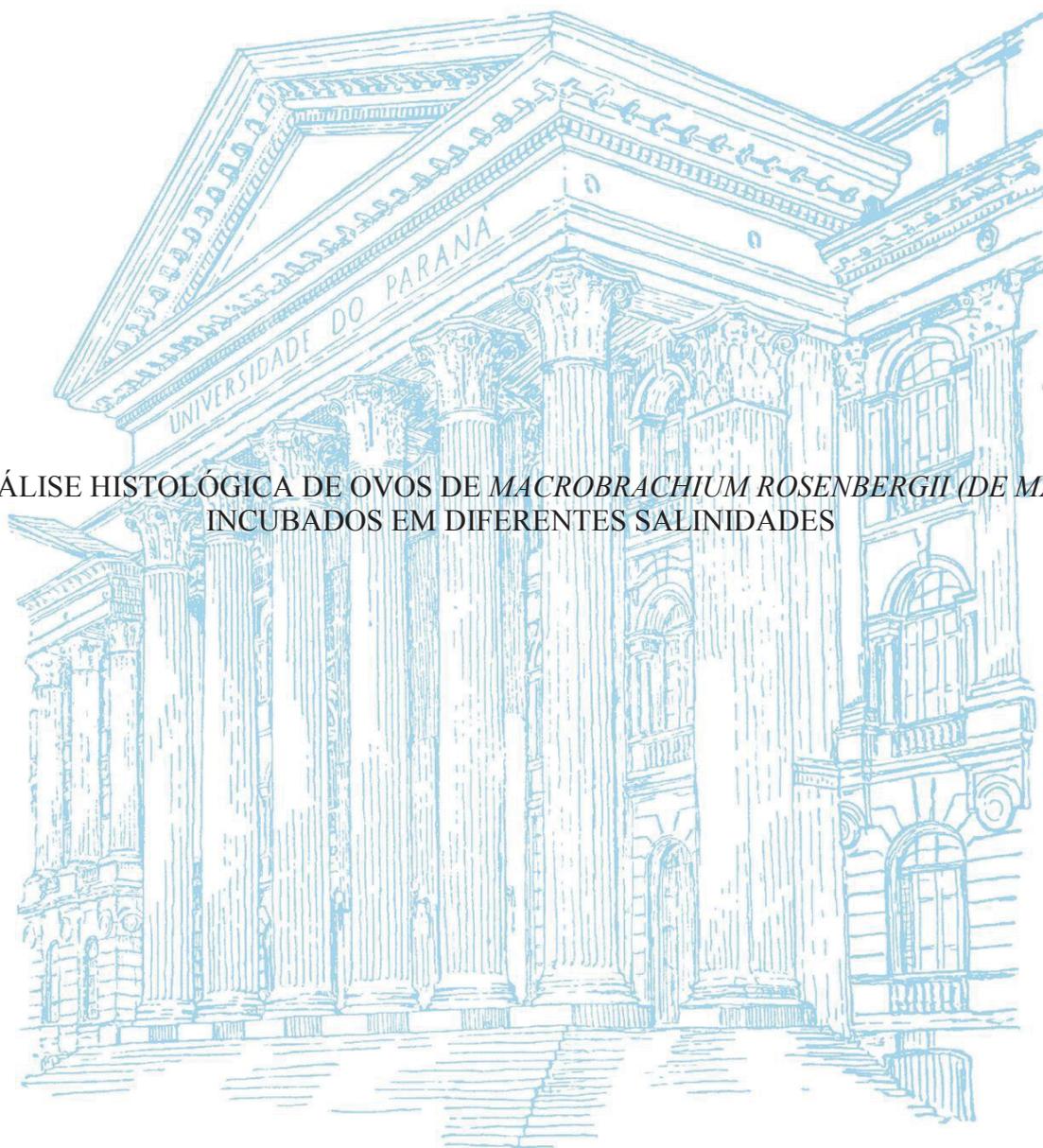


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOEL RODRIGUES DOS SANTOS

ANÁLISE HISTOLÓGICA DE OVOS DE *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* (DE MAN)  
INCUBADOS EM DIFERENTES SALINIDADES



PALOTINA -PR

2018

JOEL RODRIGUES DOS SANTOS

ANÁLISE HISTOLÓGICA DE OVOS DE *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* (DE MAN)  
INCUBADOS EM DIFERENTES SALINIDADES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, área de concentração Produção de organismos aquáticos, Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luís Cupertino Ballester

Co orientador: Prof. Dr. Milton Rönnau

PALOTINA -PR

2018

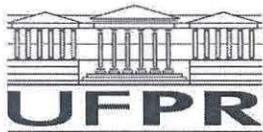
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S237 Santos, Joel Rodrigues dos  
Análise histológica de ovos de *Macrobrachium rosenbergii*  
(*de Man*) incubados em diferentes salinidades / Joel Rodrigues  
dos Santos. – Palotina, 2018.  
51f.

Orientador: Eduardo Luiz Cupertino Ballester  
Coorientador: Milton Rönnau  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e  
Desenvolvimento Sustentável.

1. Carcinicultura. 2. Embriogênese. 3. Vitelogenina.  
4. Vitelina. 5. Ecloração. I. Ballester, Eduardo Luiz Cupertino.  
II. Rönnau, Milton. III. Universidade Federal do Paraná. IV.  
Título.

CDU 639.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR PALOTINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AQUICULTURA E  
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - 40001016078P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **JOEL RODRIGUES DOS SANTOS** intitulada: **Análise histológica de ovos de *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) incubados em diferentes salinidades**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 12 de Dezembro de 2018.

EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

FÁBIO ROGÉRIO ROSADO

Avaliador Externo (UFPR)

FABRÍCIO MARTINS DUTRA

Avaliador Externo (UFPR)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela permissão para que este trabalho pudesse ser realizado e por colocar verdadeiros anjos guerreiros como meus orientadores.

A minha amada esposa Nadir, pela sua incomparável força ao meu lado, participando e me apoiando em tudo, me animando quando pensava em desistir, pelo amor dedicado a mim, obrigado por cuidar de mim sempre, mesmo quando não mereci. Ao meu filho Joel Junio, pela compreensão e paciência.

A minha querida mãe, a Dona Geni, por me amar incondicionalmente. A minha irmã Josiane Patrícia pela parceria de sempre. Ao meu irmão Edgar, meus primos Gilson e Rogério Hartmann e meu sobrinho Pedro pela amizade especial.

Aos Prof. Dr. Eduardo Ballester e Prof. Dr. Milton Rönnau por aceitaram esta árdua missão de servirem de basilar na minha orientação, bem antes do início e, apesar de tudo por não desistirem de mim.

Ao grande Dr. Fabrício Martins Dutra, pelas incansáveis explicações acerca do projeto e da estatística, obrigado meu camarada pela sua dedicação sempre.

Aos Prof. Dr. Fabio Rosado e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Fiorini, pelas análises das proteínas e dedicação e disposição em ajudar.

A UFPR, pelo suporte oferecido. Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável por mais esta oportunidade ímpar. Aos Professores do Programa por sempre dedicarem o melhor de si para o ensino e a pesquisa. Ao colega Ademir por colaborar no desenvolvimento do experimento. Ao Laboratório de Histologia, na pessoa da Marina, pela ajuda na leitura das lâminas. Ao Laboratório de Carcinicultura por toda a infraestrutura disponibilizada para este trabalho. Ao Laboratório de Qualidade de Água e Limnologia pelas análises. Aos colegas do Laboratório Multidisciplinar, pela ajuda constante. Ao colega Paulo Daniel pelo seu trabalho nas proteínas.

Aos estimados colegas Glauco, Gelso, Sérgio, Ândrea, Eliane, Mara, Wellyton e Sandra do Colégio Agrícola Adroaldo Augusto Colombo por compartilharem minhas alegrias e agonias durante nosso tempo juntos.

A banca por aceitarem o convite e pelas valorosas contribuições que farão para um trabalho de melhor qualidade.

“Porque Dele, e por Ele, e para Ele são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente.  
Amém! (Romanos 11:36 Almeida Revista e Corrigida 2009)

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”. (Isaac Newton)

## RESUMO

A espécie de camarão de água doce de maior interesse econômico atualmente é o *Macrobrachium rosenbergii*, um dos maiores camarões de água doce conhecido e com isso, sua produção a nível mundial é de aproximadamente 234 mil toneladas. Sua reprodução tem sido estudada com finalidades comerciais, A espécie possui características de incubar os ovos no abdômen, ficando ali aderidos até a eclosão em forma de larvas zoea. O processo de incubação dos ovos ou desenvolvimento embrionário, dura em torno de vinte dias. Neste período o embrião se desenvolve com reserva alimentar que se encontra no ovo. A vitelogenina presente no ovo está entre as proteínas mais importantes na reprodução, atuando como um dos desencadeadores da cadeia de sinalizadores endócrinos regulando a biossíntese de proteínas. Para podermos inferir a absorção de vitelogenina pelo embrião, ao longo das fases embriológicas, foram utilizadas técnicas histológicas. Para isso os ovos foram coletados de 5 em 5 dias por período de até 23 dias, separados conforme seu estágio de desenvolvimento, e processados com a técnica de histologia para visualizar o as mudanças estruturais com relação a vitelogenina utilizada pelo embrião durante seu desenvolvimento com a técnica de coloração H.E. Os ovos foram incubados em tratamentos de salinidades 0‰, 6‰ e 12‰, com temperatura média de 28°C. A partir da obtenção de imagens das lâminas histológicas montadas com os ovos nas diferentes fases de desenvolvimento embrionário foi possível estimar a quantidade de vitelo absorvida pelo embrião a partir da observação do espaço ocupado pelo embrião no ovo em relação ao espaço previamente ocupado pelo vitelo. As imagens obtidas foram submetidas a análise com aumento de 20 vezes, posteriormente submetidos ao processador de imagens (*Image pro-plus*®). De acordo com os dados obtidos após tratamento das informações no referido programa e com auxílio de outro software de estatística (*Statistic*®). Houve diferenciação na dinâmica de absorção, pela diferenciação das estruturas nas diferentes salinidades aplicadas. Desta forma é possível inferir que o transporte acontece no interior do ovo, possibilitando o rearranjo das biomoléculas. Ainda é possível visualizar que os tratamentos diferem entre si, quando comparados ao tamanho dos espaços formados e do deslocamento do material, sendo que para os tratamentos de salinidade intermediário (6 ‰) ocorreram de forma mais rápida em relação aos outros tratamentos.

**Palavras-chave:** Carcinicultura. Embriogênese. Vitelogenina. Vitelina. Eclosão.

## ABSTRACT

The freshwater shrimp species of major economic interest today is *Macrobrachium rosenbergii*, one of the largest known freshwater prawns therefore, its worldwide production is approximately 234 thousand tons. Its reproduction has been studied with commercial purposes. The species has characteristics of incubating the eggs in the abdomen, being adhered there until the hatching in the form of zoea larvae. The process of egg incubation or embryo development lasts for about twenty days. In this period the embryo develops with food reserve that is in the egg. Vitellogenin present in the egg is among the most important proteins in reproduction, acting as one of the chain triggers of endocrine signals regulating protein biosynthesis. In order to infer the absorption of vitellogenin by the embryo, during the embryological phases, histological techniques were used. The eggs were collected every 5 days for a period of up to 23 days, separated according to their stage of development, and processed with the histology technique to visualize the structural changes with respect to vitellogenin used by the embryo during its development with the HE staining technique. The eggs were incubated in 0 ‰, 6 ‰ and 12 ‰ salinity treatments, with a mean temperature of 28 ° C. It was possible to estimate the amount of yolk absorbed by the embryo from the observation of the space occupied by the embryo in the egg in relation to the space previously occupied by the yolk, from the images obtained from the histological slides assembled with the eggs in the different stages of embryonic development. The images were submitted to analysis with a 20-fold increase, later submitted to the image processor (*Image pro-plus*®). According to the data obtained after processing the information and with the help of other statistical software (*Statistic*®). There was differentiation in the dynamics of absorption, by the observation of the structures in the different applied salinities. Therefore, it is possible to infer that the transport happens inside the egg, making possible the rearrangement of biomolecules. It is still possible to visualize that the treatments differed from each other when compared to the size of the formed spaces and the displacement of the material, whereas for the treatments of intermediate salinity (6 ‰) they occurred faster than the other treatments.

**Key words:** Shrimp farming. Embryogenesis. Vitellogenin. Vitelline. Outbreak.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Média das áreas totais dos ovos de *M. rosenbergii* ao longo do desenvolvimento nas diferentes salinidades.....**24**
- Figura 2.** Cortes histológicos (H.E.) de ovos com 5 dias da desova(E1) em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e) formação do embrião (f). 20X... **25**
- Figura 3.** Corte histológico (H.E.) de ovos com 10 dias da desova(E2) desenvolvidos em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e); formação do embrião (f). 20X.....**25**
- Figura 4.** Cortes histológicos de ovos com 10 dias da desova(E2), com 0‰ salinidade (T0), 6‰ salinidade (T6) e 12‰ salinidade (T12). Espaços vazios (e) formação do embrião (f) Indícios da formação do olho (O) 40X.....**26**
- Figura 5.** Corte histológico (H.E.) de ovos com 15 dias da desova(E3) em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e) formação do embrião (f). Barras 31,25 µm. Indício da formação do olho (O). 20X.....**26**
- Figura 6.** Corte histológico (H.E.) de ovos com 20 dias da desova(E4). Espaços vazios (e) formação do embrião (f). 20X.....**27**
- Figura 7.** Corte histológico (H.E.) de ovos com 20 dias da desova(E4). Espaços vazios (e) formação do embrião (f) indício de formação do olho (seta unidirecional branca). 40X.....**27**
- Figura 8.** Cortes histológicos de ovos com 20 dias da desova (E4), com 6‰ salinidade (T6), apresentou sinais característicos de eclosão, ausência de ovo íntegro; ruptura do ovo (g). 20X.**28**
- Figura 9.** Cortes histológicos (H.E) de ovos com 23 dias da desova(E5) apresentaram sinais característicos de eclosão em ambos, ausência de ovo íntegro. Espaços vazios (e); embrião (f); ruptura do ovo (g). 20X.....**28**
- Figura 10.** Tamanho médio dos ovos nos diferentes tratamentos ao longo dos estágios de desenvolvimento. (as barras definem o desvio padrão dentro dos tratamentos, determinando os intervalos).....**30**
- Figura 11.** Comparativo do tamanho total da área dos ovos nos tratamentos de 0 e 12 de salinidade. (as barras definem o desvio padrão dentro dos tratamentos, determinando os intervalos).....**31**
- Figura 12.** Relação entre tamanho total médio dos ovos e tamanho médio dos espaços vazios formados durante o desenvolvimento do embrião.....**32**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores médios obtidos na qualidade de água da incubadora de ovos (semanalmente).....	<b>23</b>
<b>Tabela 2.</b> Valores médios obtidos na qualidade de água de reposição da incubadora de ovos (primeiro e último dias).....	<b>23</b>

## SUMÁRIO

1. <b>Introdução</b> .....	13
2. <b>Objetivo</b> .....	19
3. <b>Material e Métodos</b> .....	20
3.1. Coleta do Material .....	20
3.2. Histologia .....	21
4. <b>Resultados e discussão</b> .....	23
4.1. Análise dos dados.....	23
5. <b>Considerações finais</b> .....	35
<b>Referências</b> .....	36

## 1. Introdução

Os dados publicados pela FAO (2018) apontam uma produção mundial de camarões de água doce em 2016 de mais de 507 mil toneladas com um valor aproximado de 2,65 bilhões de dólares. Apesar de registrar um declínio de cerca de 75.000 toneladas em relação a 2013 a atividade apresentou um incremento de produção na última década de cerca de 25% e de mais de 1000 % se considerarmos os últimos 20 anos (FAO, 2016). As principais espécies produzidas mundialmente são *Macrobrachium nipponense* com 273 mil toneladas e *Macrobrachium rosenbergii* com 234 mil toneladas produzidas segunda a FAO (2018), em 2016. Entretanto, podemos considerar o *M. rosenbergii* como a espécie mais importante em termos mundiais pois ela é produzida em diversos países enquanto o *M. amazonicum* tem sua produção restrita a China.

O gênero *Macrobrachium* é o maior em número de espécies da ordem Decapodae (LATREILLE, 1803), sendo que a maioria das espécies vive em água doce, ao menos em uma fase de vida. O gênero pode ser encontrado em praticamente todos os continentes, a exceção da Europa e da Antártica (NEW et al, 2010). Apresenta cerca de 230 espécies conhecidas, com pelo menos 123 espécies na região oriental. É o gênero que mais tem despertado interesse comercial por criadores ao redor do mundo, tanto para cultivo em cativeiro, quanto para exploração dos estoques naturais (ODINETZ-COLLART E MOREIRA, 1993).

No Brasil a espécie exótica *M. rosenbergii* é a única produzida comercialmente em cativeiro, entretanto, apesar de haver sido registrado sucesso no início desta atividade com produções próximas a 1000 toneladas por ano no início da década de 90 (VALENTI, 1998) a atividade entrou em declínio e atualmente a produção é muito reduzida registrando valores próximos a apenas 100 toneladas por ano desde 2008 (FAO 2016). Por outro lado, as espécies nativas *Macrobrachium amazonicum* (HELLER 1862), *Macrobrachium acanthurus* (WEIGMANN 1836) e *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS 1758) são exploradas por meio da pesca principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (VALENTI, 2007; MACIEL e VALENTI, 2009).

O camarão *M. rosenbergii* vive em ambientes de água doce tropicais com acesso à água salobra, pois seu desenvolvimento larval ocorre em ambiente com baixa salinidade (JOHN, 1957; LING e MERICAN, 1961; SANDIFER et al., 1975). Quando os ovários atingem a maturidade, o que ocorre por volta do 5º mês, as fêmeas sofrem a muda pré-nupcial, e em

seguida ocorre a cópula (VALENTI, 1996). A desova ocorre cerca de 24 horas após a cópula (PINHEIRO E HEBLING, 1998).

Sua reprodução tem sido estudada com finalidades comerciais á algumas décadas (McNAMARA et al., 1985; McNAMARA et al., 1990; MULLER & PRAZERES, 1992; MULLER et al., 1999; AMMAR et al., 2001; MOSSOLIN e BUENO, 2002). No seu ciclo biológico reprodutivo, a fêmea de *M. rosenbergii* possui características de incubar os ovos no abdômen, como os membros da infra ordem *Caridea*, ficando ali aderidos aos pleópodos até a eclosão em forma de larvas zoea (PINHEIRO; HEBLING, 1998).

O acasalamento do camarão *M. rosenbergii* segundo Lobão (1996) ocorre na natureza durante o ano todo, com picos de atividade sexual na primavera e verão. A fêmea madura, após a muda nupcial, com o exoesqueleto ainda mole, é fecundada por um macho de carapaça dura. O acasalamento dura de três a seis horas após a muda pré-nupcial e dura alguns minutos. A cópula se processa pela deposição do sêmen, contido em massa gelatinosa (espermatóforo), no receptáculo localizado na parte inferior da região torácica da fêmea.

Após um período de 6 a 20 horas ocorre a desova, que tem a duração de cerca de 20 minutos e que consiste na saída dos óvulos do ovário e em sua fertilização pelos espermatozoides. Os ovos resultantes são alojados na câmara existente na região inferior do abdômen, onde são mantidos presos por uma fina membrana e arejados por movimentos rápidos dos apêndices abdominais.

Um fato que caracteriza a reprodução bem-sucedida de algumas espécies de crustáceos está no transporte/incubação dos ovos pela fêmea até a eclosão, resultando em uma taxa de sobrevivência bastante elevada dos embriões (GIESE, PEARSE, 1974. FELGENHAUER, ABELE, 1983; SANDEMAN e SANDEMAN, 1991; CHARNIAUX COTTON et al., 1992).

As fêmeas mantêm os ovos firmemente aderidos próximo aos pleópodos até a eclosão, permitindo o acompanhamento da embriogênese durante a incubação (MULLER et al. 2004). Via de regra, espécies que mantem certo cuidado parental produzem os ovos classificados como centrolécitos, com clivagem meroblástica superficial (FIORONI, 1992), promovendo um desenvolvimento um pouco mais lento, onde o nauplio é modificado e já se mostra presente durante a embriogênese.

Os ovos têm diâmetro em torno de 0,6 mm, apresentam cor alaranjada e são revestidos por uma fina membrana. Após a desova, inicia-se o processo de incubação dos ovos ou

desenvolvimento embrionário, que dura em torno de vinte dias. Neste período, os ovos passam da cor alaranjada para cinza-escuro quando é possível visualizar os olhos dos embriões, devido à transparência (LOBÃO, 1996).

Durante o desenvolvimento de crustáceos, ocorre uma grande variedade de modificações morfológicas, fisiológicas e no conteúdo e distribuição do vitelo nos ovos, variando desde os ovos menores até os de maior volume. Ovos de menor volume apresentam menor quantidade de vitelo e clivagem total, dando origem aos náuplios de natação autônoma. Quando a quantidade de vitelo é maior no ovo, e existe a incubação materna, acontece a clivagem parcial e a eclosão na forma de zoea (SCHOLTZ, 2000; HERTZLER, 2002).

Graziani et al. (1993) e Lara e Wehrtmann (2009) realizaram alguns estudos sobre os aspectos da reprodução de *M. carcinus*. O desenvolvimento larval de *M. carcinus* foi estudado por Choudhury (1971). Esses autores obtiveram as larvas a partir de fêmeas ovígeras coletadas no ambiente natural (CUNHA, 2008). Segundo Fukuda (2009), o volume dos ovos de *Macrobrachium acanthurus*, apresentou diferença significativa em relação às diferentes salinidades, sendo que as salinidades mais baixas foram mais adequadas. No entanto em trabalhos realizados com larvas do camarão *Macrobrachium carcinus*, Louzada et al. (2011) obtiveram melhores resultados com níveis de salinidade em torno de 20‰.

Cutolo (2005) testou diferentes salinidades em tratamentos com *Macrobrachium amazonicum* e concluiu que estas podem ser cultivadas em salinidades de apenas 1‰. No entanto obteve melhores resultados com salinidades maiores. Este nível de salinidade observado por Cutolo (2005) nas larvas, sugere que o *M. amazonicum* pode ter seu desenvolvimento larval em laboratório de modo satisfatório com apenas 1‰ de salinidade.

Diversos métodos têm sido empregados para caracterizar o padrão de desenvolvimento meroblástico e para poder reconhecer as alterações morfológicas progressivas durante o desenvolvimento embrionário (PERKINS, 1972; HELLUY e BELTZ, 1991; NAZARI et al., 2000; MULLER et al., 2003). A apresentação de ovos de tamanho grande e maiores quantidades facilitam de certa forma o acompanhamento da embriogênese durante o período de incubação (MULLER et al., 1996; ODINETZ-COLLART, RABELO 1996; SANDEMAN e SANDEMAN, 1991).

As divisões celulares intra vitelínicas ocorrem com formação do blastoderma, do disco germinal, da área blastoporal, papila caudal, dando origem ao pós-náuplio e o vitelo é incorporado pelo intestino (ANDERSON, 1982; MULLER et al., 2003), dando origem a forma

larval avançada, com estruturas mais desenvolvidas, conhecida como zoea (ANDERSON, 1973; HARTNOLL, 1982; DAHL, 1983; FELGENHAUER e ABELE, 1983).

A embriogênese nos ovos vitelíferos permite visualizar todas as alterações morfológicas que acontecem diariamente por um exame macroscópico e através dos cortes histológicos. No entanto, algumas metodologias permitem também a avaliação de desenvolvimento por meio de medições de algumas estruturas embrionárias (BELTZ et al., 1992), relacionando as variáveis quantitativas para as descrições morfológicas.

Apesar da embriogênese geral já ser conhecida, apenas alguns trabalhos relataram a morfologia embrionária das espécies de *Macrobrachium*. Estudos anteriores trataram de *M. rosenbergii*, *M. olfersii*, *M. acanthurus* e *M. americanum* (CACECI et al., 1996; MULLER et al., 2004, 2007; GARCIA-GUERRERO e HENDRICKX, 2009). Outros estudos compararam ainda a embriogênese de quatro espécies da família Palaemonidae, *M. olfersii*, *M. potiuna*, *P. pandaliformis* e *Palaemonetes argentinus* (MULLER et al., 2004).

Na embriogênese é possível notar um aumento na complexidade das estruturas embrionárias e uma reorganização das reservas vitelínicas (GREEN, 1965). A incorporação do vitelo, acaba por liberar espaço no ovo, possibilitando o desenvolvimento de apêndices corporais, o crescimento do abdômen e organização dos órgãos no cefalotórax (MULLER et al., 2003).

Diversas metodologias foram utilizadas para o estadiamento de desenvolvimento embrionário em estudos de crustáceos, avaliando a morfologia interna e externa ao embrião, nível de componentes embrionários, tempo transcorrido durante a embriogênese entre outros (SIMÕES-COSTA et al., 2005; ANDERSON, 1973, 1982; RABALAIS, GORE, 1985; PERKINS, 1972; HELUY; BELTZ, 1991; SANDERMAN e SANDERMAN, 1991; NAZARI et al., 2000). Estudos também avaliaram a embriogênese de espécies do gênero *Macrobrachium* confirmando a homologia da padronização dos esquemas de estadiamento entre algumas espécies (MULLER et al., 1984, 2007). Zhao et al (1998) trataram de descrever a embriogênese, o desenvolvimento e diferenciação do sistema digestivo do *M. rosenbergii*, sendo esta então dividida em sete estágios: clivagem, blástula, gástrula, nauplio embrionizado, metanauplio, protozoea e zoea. Segundo Yao et al (2006) os ovos de *M. rosenbergii*, apresentam grandes quantidades de grânulos vitelínicos distribuídos homogeneamente, durante a etapa de fertilização. O vitelo que ainda permanece ao redor de alguns órgãos apresenta características diferentes dos encontrados no período de fertilização (YAO et al., 2006).

Os ovos são ricos em vitelogenina, que são utilizados como promotores durante o desenvolvimento embrionário. Esta lipoproteína é considerada como um dos principais componentes do ovo, e desempenha um papel importante na morfogênese e no suprimento de energia para os embriões em desenvolvimento (LUO et al., 2004). A vitelogenina tem sua síntese iniciada nas gônadas, ainda na fase de oócitos, podendo ter origem endógena, em caso de produção nas células foliculares e/ou no próprio oócito, e exógena se a produção se dá de forma extra ovariana, ainda podendo ocorrer de ambas as formas (SIEBERT, 2015).

O vitelo, que é composto em sua maioria por lipídeos, proteínas, carboidratos e íons, tem a função de suprir alimento ao embrião. Podemos considerar que essas proteínas presentes no ovo, estejam entre as mais importantes proteínas de reprodução. A vitelina (MANN, 1999), é a proteína produzida pelo seu precursor circulante, a vitelogenina, como foi nomeada inicialmente por Telfer (1954), está presente nessa composição. As vitelogeninas também atuam como desencadeadores da cadeia de sinalizadores endócrinos, geralmente ativada por fatores ambientais específicos que, em última análise, regulam a biossíntese de proteínas (YINET al., 1990).

A sobrevivência de larvas de camarão *M. amazonicum* foi garantida nos primeiros dias de vida em função da presença da vitelogenina (CUTOLO, 2005), uma reserva energética que também havia sido verificada por Perez (1984). A quantidade remanescente da vitelogenina nos ovos dos camarões pode indicar o tempo que permanecem sem o alimento artificial, contribuindo para a criação artificial de alguma forma.

Em estudos com artrópodes, as células foliculares apresentam a capacidade de mudança em sua forma de modo a acompanhar o crescimento e a maturação do ovócito devido ao depósito de vitelogenina em seu interior (RONNAU, 2013). Portanto a possibilidade de se verificar o transporte da vitelogenina se dá por essas alterações. O desenvolvimento embrionário é um processo complexo no qual a diferenciação e proliferação celular ocorrem simultaneamente, mas em taxas diferentes (GOULD, 1977).

A quantificação dessa lipoproteína presente nos ovócitos de camarão e o quanto dela fará parte de fato do embrião é ainda um assunto pouco conhecido. Sendo assim a possibilidade de avaliação dessas quantidades e as rotas que permitem a absorção pelo embrião em desenvolvimento são de grande importância, tendo, influência na sobrevivência das fases seguintes das larvas do camarão.

No estudo de Habashy et al. (2012), após eclosão a larva apresenta ainda alguma reserva vitelínica, que garante a primeira muda bem-sucedida e favorece a independência do recurso energético externo durante a adaptação a alimentação externa. Essas descobertas coincidiram com os estudos de Yao et al. (2006), que determinaram várias alterações bioquímicas durante a morfogênese, e que carboidratos foram preferencialmente utilizados como fonte de energia na fase inicial do desenvolvimento embrionário.

Yao et al. (2006) observou mudanças bioquímicas e atividades enzimáticas digestivas relacionadas as mudanças na morfogênese durante o desenvolvimento embrionário de *M. rosenbergii*, entre elas, as atividades de enzimas digestivas permaneceram em um certo nível durante o estágio de ovo fertilizado e o carboidrato foi a principal fonte de energia no estágio inicial do desenvolvimento embrionário, a relação de aminoácidos permaneceu inalterada em diferentes estágios de desenvolvimento embrionário, o que garantiu a conclusão do desenvolvimento. O lipídio atuou principalmente como fonte de energia. sendo utilizados tanto no início, como nos estágios finais, dessa forma os ovos ainda contêm um pouco de reserva vitelínica até a eclosão (YAO et al., 2006), que favorece sua independência dos recursos energéticos externos enquanto a alimentação externa não começa.

A importância de se conhecer os mecanismos envolvidos no transporte e absorção da vitelogenina pela membrana que envolve o ovócito bem como a quantidade que estará disponível no ovócito e é utilizada pelo embrião no seu crescimento, contribuirá para a compreensão da fisiologia do sistema reprodutivo do *M. rosenbergii*.

Para o desenvolvimento pós-embrionário, esse conhecimento se mostra interessante, pensando na alimentação, sanidade e na sobrevivência dos embriões e das larvas, uma vez que animais mais sadios estarão menos propensos a desenvolverem doenças. Da mesma forma, a alimentação das fêmeas reprodutoras pode ser adequada e equilibrada, com vista à fase de desenvolvimento dos ovócitos (VAZZOLER, 1982; LOBÃO et al., 1985; VALENTI et al., 1989).

## 2. Objetivo

O presente trabalho pretende demonstrar a visualização das modificações que ocorreram no ovócito, pela alteração da estrutura celular, destacando a importância na formação do ovo, do embrião e as possíveis relações com os estádios larvais iniciais do *M. rosenbergii*. Inferir a possível relação dessas modificações com a presença da vitelogenina em diferentes salinidades.

### 3. Material e Métodos

#### 3.1. Coleta do Material

Para a realização do trabalho, foram mantidas fêmeas que apresentaram estágio de maturação gonadal característico, estocadas em tanques arredondados com dimensões de 97cm/153cm (a/d) com capacidade de aproximadamente 1.000 litros, preenchidos com água isenta de cloro, arejada a uma profundidade de cerca de um metro, juntamente com exemplares de machos de *M. rosenbergii*, na proporção de 3 fêmeas para um macho. Os camarões eram alimentados diariamente com ração do tipo comercial. Os parâmetros da qualidade da água, como temperatura, oxigênio dissolvido (OD), pH foram medidos semanalmente permanecendo dentro de níveis aceitáveis (VALENTI et al). As fêmeas foram observadas diariamente, de acordo com o comportamento reprodutivo (LING & MERICAN, 1961; LING, 1969). Ao primeiro sinal de desova, quando apresentaram seus ovos aderidos ao abdômen, foram recolhidas para a coleta. A obtenção dos ovos se deu com auxílio de um estereomicroscópio a partir das fêmeas mantidas conforme citado anteriormente no Laboratório de Carcinicultura da UFPR -Setor Palotina.

Para a coleta dos ovos foi empregado o método descrito por Cavalli et al. (2001). A metodologia consiste em retirar em uma única coleta da fêmea ovada todos os ovos, mantendo estes em condições de temperatura e aeração controladas. A partir destes foi montado o experimento, com 3 tratamentos e 15 repetições mantidos em uma incubadora artificial, com capacidade 2.000 mL (CAVALLI, 2001), divididos em tratamentos que variaram de zero de salinidade, água salinizada artificialmente reconstituída de modo a conter teor de salinidade adequado ao período de incubação natural, em torno de 12 ‰, além do tratamento intermediário de 6 ‰, observando a composição artificial contida no sal artificial Red Sea Salt®. Conforme descrito por Silva (1995), foram adicionados 13,33 gramas de do sal comercial por litro de água padrão potável isenta de cloro, para obtenção de 12 ‰ sendo e 6,6 gramas para 6 ‰. Mantidos com uma temperatura média de 28°C (CAVALLI et al. 2001), e levemente aerados com auxílio de um aerador mecânico.

A verificação dos parâmetros de qualidade de água, durante o experimento foi realizada com auxílio de um termômetro de mercúrio, para temperatura. Já a salinidade foi verificada com auxílio de um refratômetro analógico, calibrado com uso de água destilada. O pH foi verificado com uso de medidor de pH tipo digital portátil, devidamente calibrado. Amostras de água foram enviadas para o Laboratório de Qualidade de Água e Limnologia da UFPR-Palotina, no início e ao termino do experimento, onde foram analisadas além de pH, a alcalinidade,

dureza, amônia, nitrito e oxigênio dissolvido. Mantidos em fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

A retirada dos ovos a partir das repetições, para a análise histológica, foi realizada no mesmo dia da retirada dos ovos da fêmea, sendo este o dia zero para todos os tratamentos, e a partir do quinto dia, de cinco em cinco dias até o vigésimo dia, e a coleta final realizada no vigésimo terceiro dia, onde não foi mais possível observar ovos não eclodidos. Foram utilizados 15 ovos por tratamento nas repetições, totalizando 32 (15 ovos cada) retiradas durante o período experimental, a fim de serem observadas as fases de desenvolvimento descrita por Ling (1969), de modo a permitir a visualização das alterações no ovo para os procedimentos da técnica histológica.

### 3.2. Histologia

Para o procedimento histológico os ovos coletados a partir da incubadora foram imediatamente fixados em solução de Alfac (LOPES e MALHÃO, 2016) por 12h, após este período os ovos foram mantidos em o álcool 70%, para posterior processamento histológico. Os ovos foram separados em um tubo Eppendorf com uma quantidade média de 15 ovos por tubo Eppendorf, conforme seu estágio de desenvolvimento. Em seguida foram transferidos para o processo de desidratação em série crescente de álcool a 70%, 80%, 90% e absoluto, permanecendo por 15 minutos em cada banho. Após a desidratação, o material foi diafanizado em banhos de xilol (dois banhos) com tempo de 15 minutos cada banho. Posteriormente os ovos foram impregnados e confeccionados blocos em parafina para posterior corte histológico e procedimento de coloração com Hematoxilina e Eosina (H.E) (adaptado de LOPES e MALHÃO, 2016). Os blocos obtidos foram seccionados em 10 microns de espessura, sendo transferidos para uma lâmina de vidro e corados com soluções de hematoxilina e eosina. Realizado de forma progressiva, deixando os cortes na hematoxilina apenas o tempo suficiente para que os núcleos sejam corados (LOPES e MALHÃO, 2016). Em seguida as lâminas passaram pela coloração da eosina que distingue o citoplasma de diferentes células e diferentes tipos de fibras do tecido. Após a coloração as lâminas foram montadas de forma permanente com a utilização do balsamo do Canadá (LOPES e MALHÃO, 2016).

Após secagem foram examinados em microscópio de luz, com aumento de 20 X, da marca Olympus BX50, acoplada uma câmera digital 3CCD Pro-Series, Programa para captura e análise de imagens: IMAGE PRO-PLUS V. 4.5.1 da Media Cybernetics®. Para utilizar o

equipamento foi calibrado o Analisador de Imagens utilizando uma lâmina micro metrada da Olympus®. As imagens histológicas obtidas inseridas no IMAGE PRO-PLUS foram coloridas em camadas com auxílio do programa, o qual fez a leitura em cores distintas, selecionando os locais de interesse onde os espaços foram visualizados na lâmina, com base em um padrão previamente calibrado, realizou a contagem da área total e da área dos espaços observados ( $\mu\text{m}$ ). As imagens obtidas foram então analisadas e comparadas com dados disponíveis em literatura.

Para a análise estatística, realizada em quaduplicata, foi utilizado o programa Statistic®, após verificação da normalidade e homocedasticidade, os dados foram submetidos a Anova (Anova fatorial 3%). Ao apresentar variância as médias foram submetidas ao teste Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Análise dos dados

A água foi mantida com os parâmetros adequados para a biologia da espécie seguindo os observados na água de cultivo. A água foi reposta a medida em foi necessário para manter os 2.000mL. Os parâmetros de qualidade da água durante o período experimental foram mantidos dentro da faixa aceitável para a criação de camarão (CORREIA et al., 2000; NEW, 2002; MALLASEN et al., 2003) conforme tabela 1. Os resultados de amônia, nitrito, dureza e alcalinidade são mostrados na tabela 2.

Tabela 1. Valores médios obtidos na qualidade de água da incubadora de ovos (semanalmente)

Parâmetros verificados	Tratamentos		
	0‰	6‰	12‰
Temperatura °C	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 2
pH	7,8 ± 0,3	7,9 ± 0,4	8,0 ± 0,3
Oxigênio dissolvido mg/L	5,9 ± 0,5	5,9 ± 0,5	5,9 ± 0,5

Tabela 2. Valores médios obtidos na qualidade de água de reposição da incubadora de ovos (primeiro e ultimo dias)

	AMONIA	NITRITO	DUREZA	ALCALINIDADE
	mg/L			
Média	0,2 ± 0,01	0,05 ± 0,0	50 ± 0,71	45 ± 0,01
coleta no dia 1 e dia 23				

No presente trabalho, foram encontrados resultados da relação com o tempo de eclosão e em relação as diferentes salinidades houveram diferenças significativas. Os tratamentos contendo 6 ‰ de salinidade apresentaram eclosão a partir do 15º (décimo quinto dia) de incubação e eclosão total antes do 20º (vigésimo) dia com temperatura média de 28º (± 2). Os tratamentos contendo 12 ‰ e 0 ‰ apresentaram início da eclosão a partir do 20º (vigésimo) dia e eclosão total a partir de 23 dias de incubação, também com temperatura média de 28º (± 2). Conforme observado na investigação de Habashy (2013), os ovos de *M. rosenbergii* eclodiram em 20 dias a 28°C. Estes resultados estavam de acordo com os relatórios anteriores de Ogasawara (1984) que indicavam que os ovos de *M. rosenbergii* eclodiram em 25 dias a 26°C, 20 dias a 28°C e em 17 dias a 32°C. Além disso, Manush et al. (2006) encontraram uma relação

linear direta entre as taxas de desenvolvimento de embriões de *M. rosenbergii* com a temperatura de incubação. Esses resultados sugerem a influência direta da temperatura no tempo de eclosão, além da interferência da salinidade.

As imagens das lâminas contendo os cortes histológicos dos ovos de *M. rosenbergii* foram observadas e verificou-se a formação de espaços e do próprio embrião. Os dados obtidos são apresentados na figura 1.

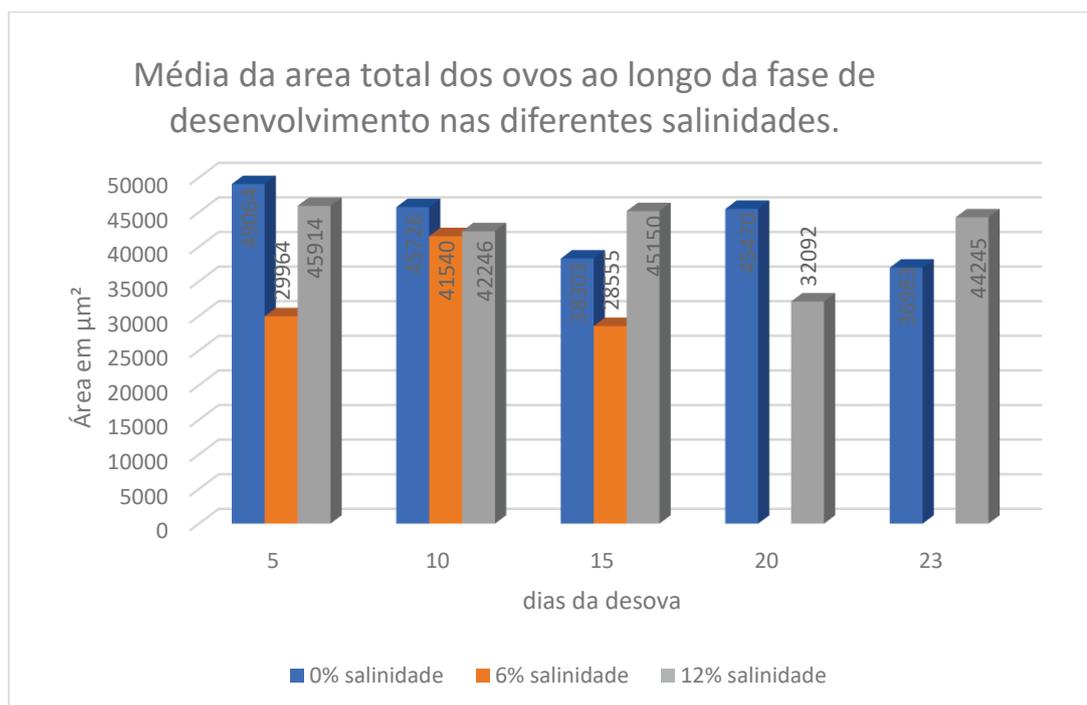


Figura 1. Média das áreas totais dos ovos de *M. rosenbergii* ao longo do desenvolvimento nas diferentes salinidades.

Ainda de acordo com a figura 1, com os dados submetidos ao tratamento estatístico, é possível visualizar que houveram diferenças entre os tratamentos. Sendo que o tratamento com 6 ‰ demonstrou diferenças significativas em relação aos extremos de 0 ‰ e 12 ‰ de salinidade.

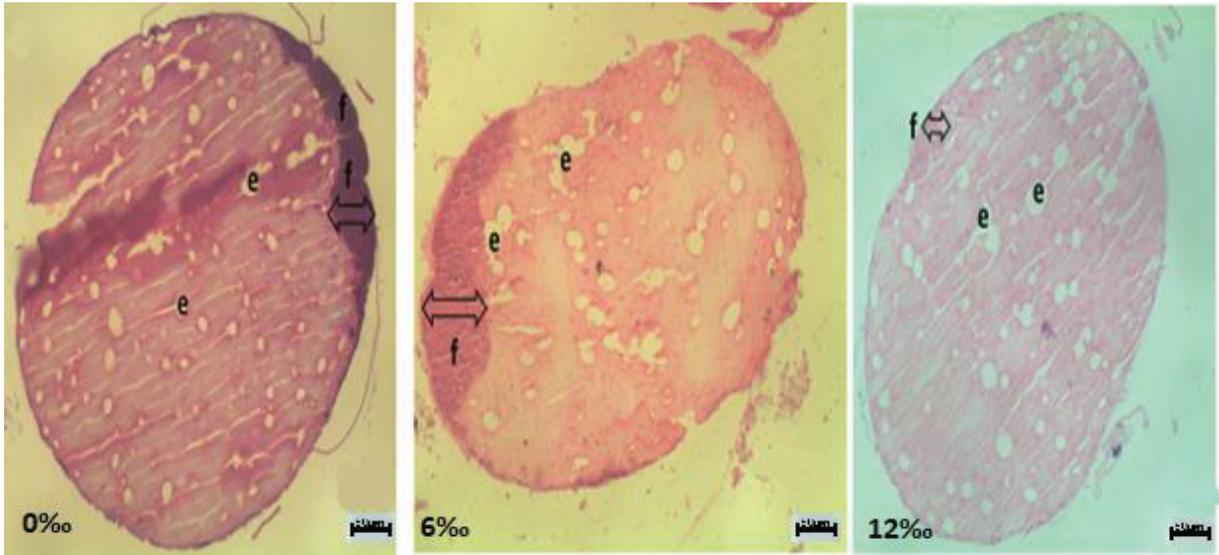


Figura 2. Cortes histológicas (H.E.) de ovos com 5 dias da desova(E1) em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e) formação do embrião (f). 20X.

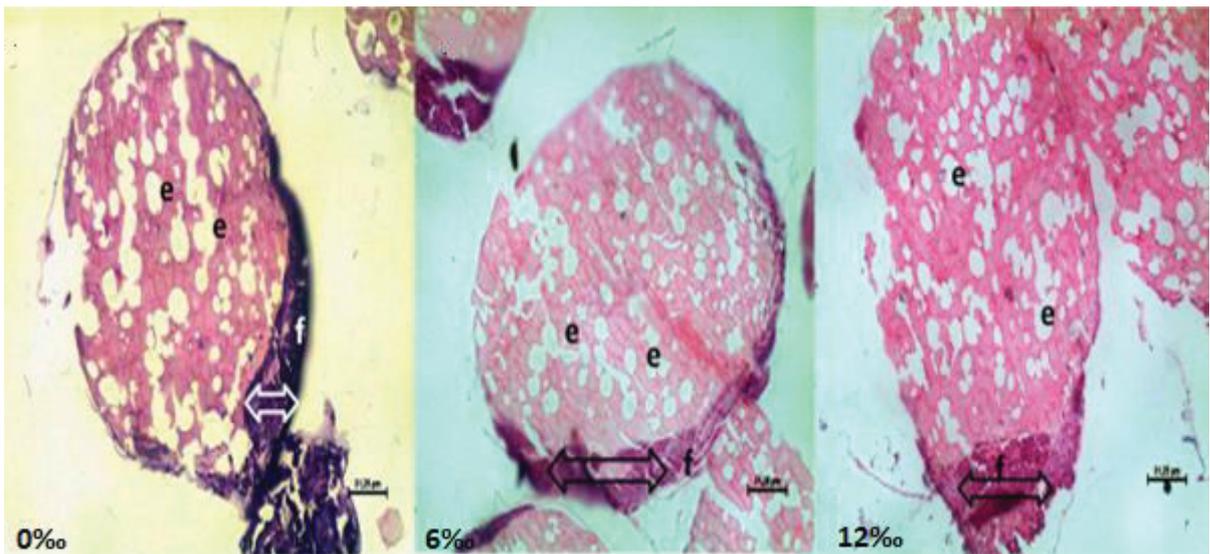


Figura 3. Corte histológico (H.E.) de ovos com 10 dias da desova(E2) desenvolvidos em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e); formação do embrião (f). 20X

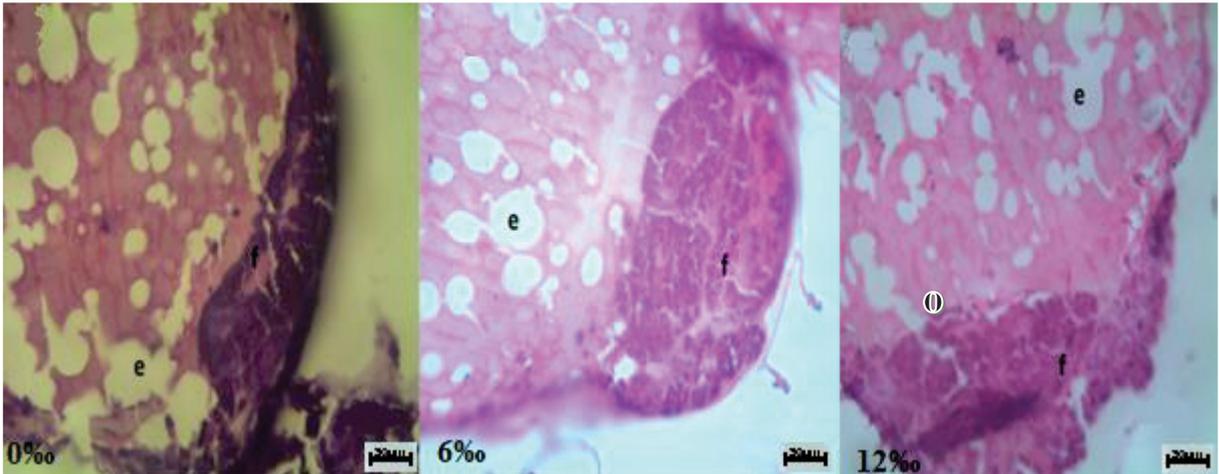


Figura 4. Cortes histológicas de ovos com 10 dias da desova(E2), com 0‰ salinidade (T0), 6‰ salinidade (T6) e 12‰ salinidade (T12). Espaços vazios (e) formação do embrião (f) Indício da formação do olho (O) 40X.

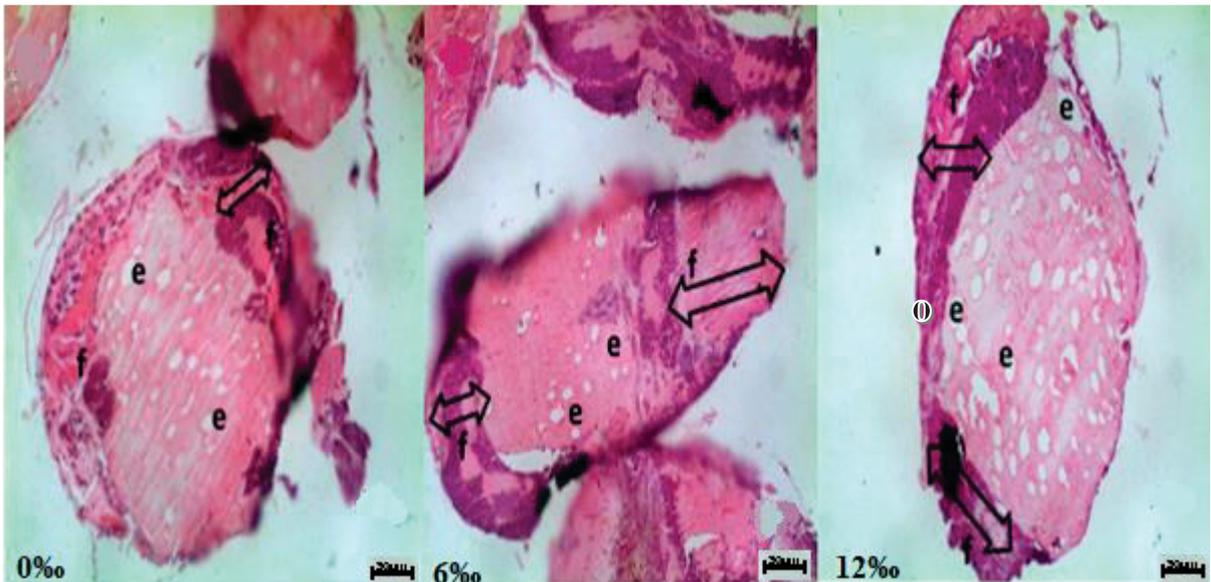


Figura 5. Corte histológico (H.E.) de ovos com 15 dias da desova(E3) em diferentes concentrações de salinidade. Espaços vazios (e) formação do embrião (f). Barras 31,25  $\mu$ m. Indício da formação do olho (O). 20X.

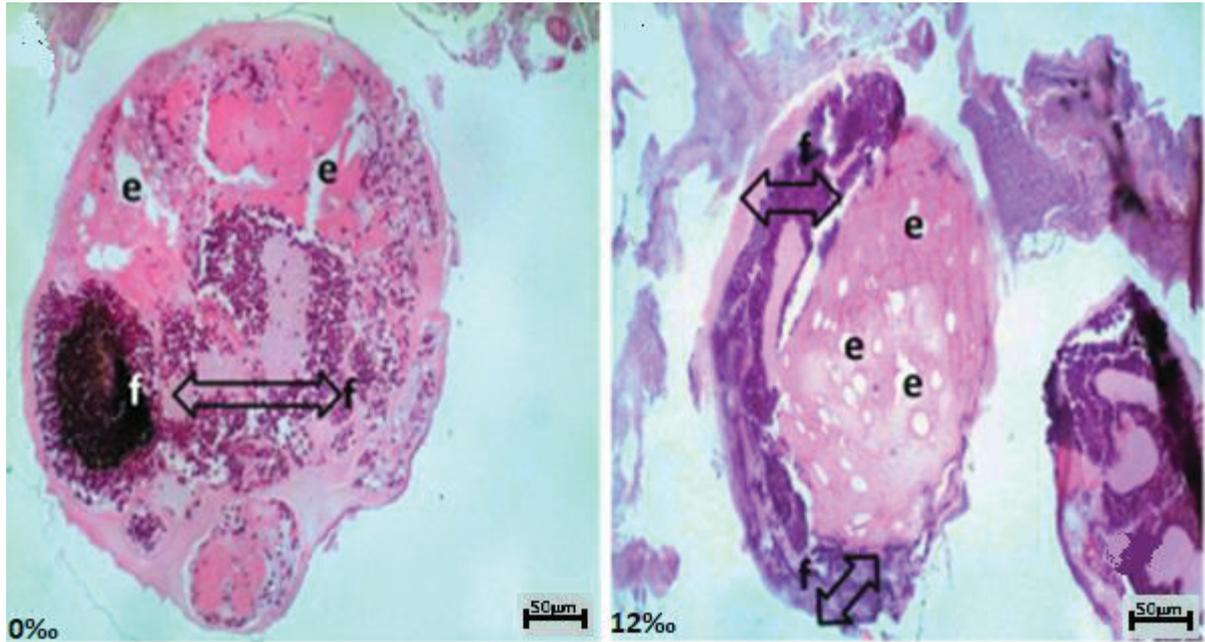


Figura 6. Corte histológico (H.E.) de ovos com 20 dias da desova(E4). Espaços vazios (e) formação do embrião (f). 20X.

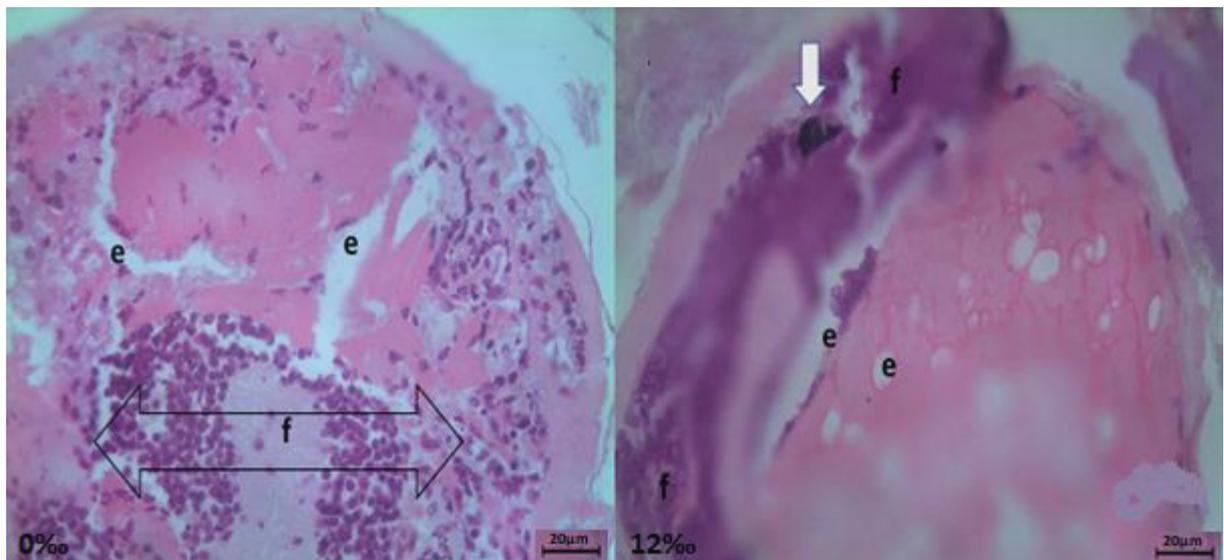


Figura 7. Corte histológico (H.E.) de ovos com 20 dias da desova(E4). Espaços vazios (e) formação do embrião (f) início de formação do olho (seta unidirecional branca). 40X.

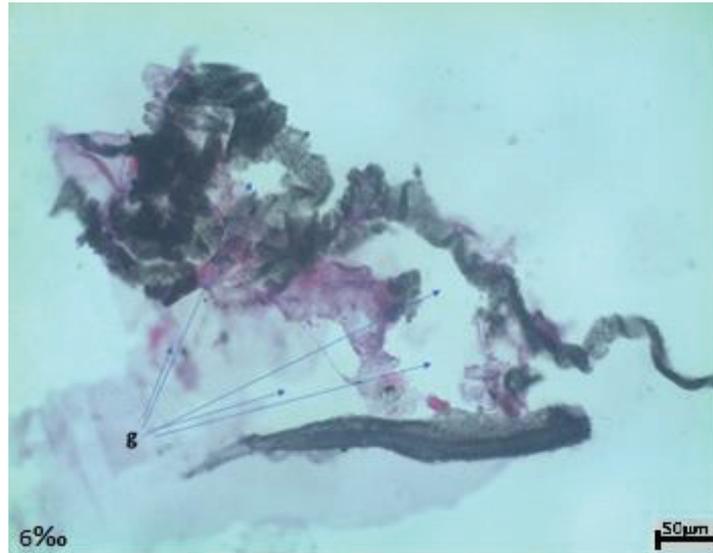


Figura 8. Cortes histológicos de ovos com 20 dias da desova (E4), com 6‰ salinidade (T6), apresentou sinais característicos de eclosão, ausência de ovo íntegro; ruptura do ovo (g). 20X.

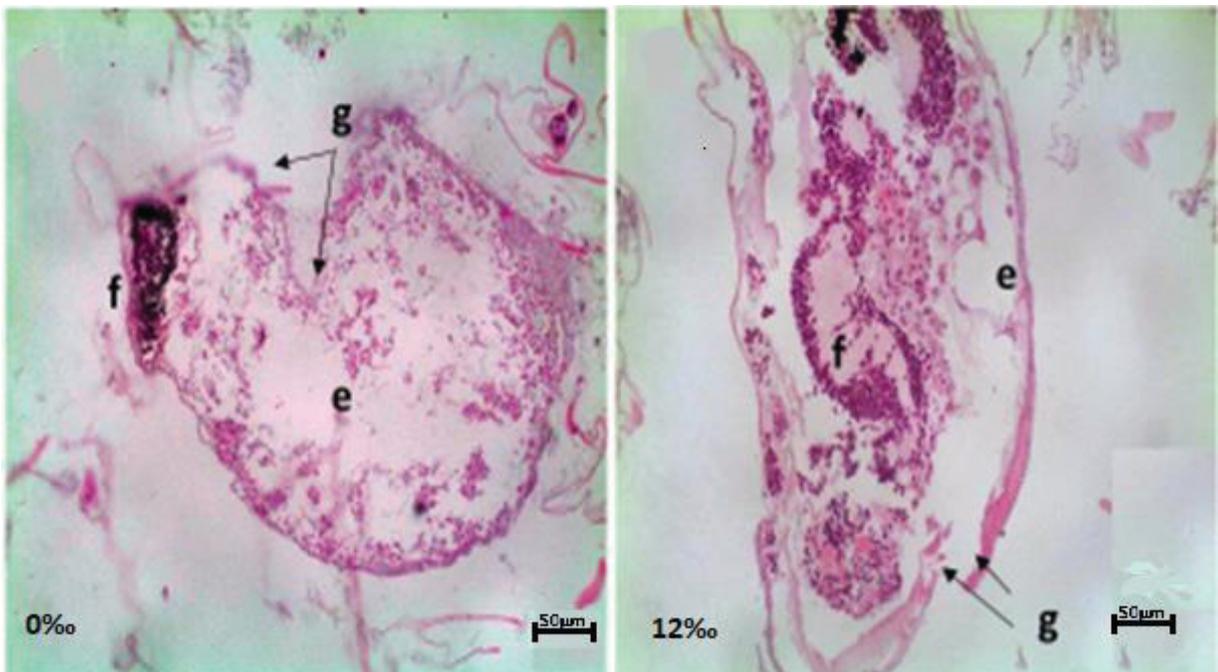


Figura 9. Cortes histológicos (H.E) de ovos com 23 dias da desova(E5) apresentaram sinais característicos de eclosão em ambos, ausência de ovo íntegro. Espaços vazios (e); embrião (f); ruptura do ovo (g). 20X.

Segundo diversos trabalhos relacionando as fases de desenvolvimento do *M. rosenbergii* é possível visualizar as modificações que acontecem no interior do ovo, percebe-se facilmente a formação de espaços, não corados já nas fases iniciais com 5 dias (Figura 2) até a fase final de eclosão com 15 dias (Figura 5) e com 20 dias (Figura 6) indicando a movimentação de compostos bioquímicos presentes. Esse deslocamento do conteúdo vitelínico se faz na construção e fornecimento de energia ao embrião em desenvolvimento. De acordo com Clarke et al. (1990), durante os estágios de desenvolvimento embrionário, os ovos possuem composição aproximada de, 31,1  $\mu\text{g}$  proteínas por grama e 14,4 $\mu\text{g}$  lipídios por grama, no dia 1. Variando em quantidade a medida de seu desenvolvimento, verificando que as proteínas tiveram um valor ligeiramente elevado, valor este sendo mantido até o 16º dia, enquanto que os lipídios apresentaram queda em relação ao primeiro dia e comparada a proteína, apresentando 9,4 $\mu\text{g}$  aos dezesseis dias. É possível visualizar a estruturação da morfologia interna do ovo, com a mudança na conformação dando origem ao embrião. Com estes resultados Clarke et al. (1990) pode confirmar uma movimentação dos componentes do ovo durante a embriogênese.

A análise bioquímica observada por Habasy et al. (2012) mostrou que os maiores teores de lipídios e proteínas nos ovos de *M. rosenbergii* podem ser a razão para longos estágios larvais no desenvolvimento embrionário dessa espécie. Ainda revelou que as alterações bioquímicas nos ovos refletem mudanças na morfogênese durante o desenvolvimento embrionário de *M. rosenbergii*, indicou que o carboidrato é a principal fonte de energia nos estágios iniciais do desenvolvimento embrionário. O lipídeo também serve como uma fonte de energia, e a proteína serve principalmente como substância estrutural. O ovo ainda mantém um pouco de vitelo até a eclosão, o que garante a primeira muda bem-sucedida e favorece a independência do recurso energético externo durante a alimentação externa (YAO et al. 2006). O tamanho dos ovos durante os estágios do desenvolvimento embrionário aumentou na salinidade de 6 ‰ em comparação com o estágio inicial e com o 0 ‰ e 12 ‰ (Figura 11), provavelmente devido ao aumento do teor de água. A água fornece um ambiente líquido para o embrião e a maior pressão, o que permite que o embrião rompa a membrana do ovo na preparação da eclosão, conforme Yao et al. (2006).

Clarke et al. (1990) realizaram experimento com *M. rosenbergii* considerando o período de desenvolvimento embriológico de em média 16 dias, porém, em água doce. Avaliaram o conteúdo do ovo e encontraram um aumento na quantidade de água do ovo, e sugerem um aumento no conteúdo lipídico nos primeiros cinco dias. Turner e Lawrence (1979) observaram que os ovos podem variar de tamanho entre o mesmo grupo taxonômico e entre as espécies, e

até diferenças dentro da mesma espécie. Conforme pode ser visualizado na figura 10, a diferença entre os tamanhos dos ovos ao longo dos estágios, considerando fêmeas de tamanhos distintos, o que pode ser observado nas amostras analisadas neste trabalho. Outro aspecto observado através das análises estatísticas foi o aumento dos locais vazios em relação ao tamanho total no tratamento de 6‰ a partir do E2, que representa 10 dias, até o E3 (15 dias),

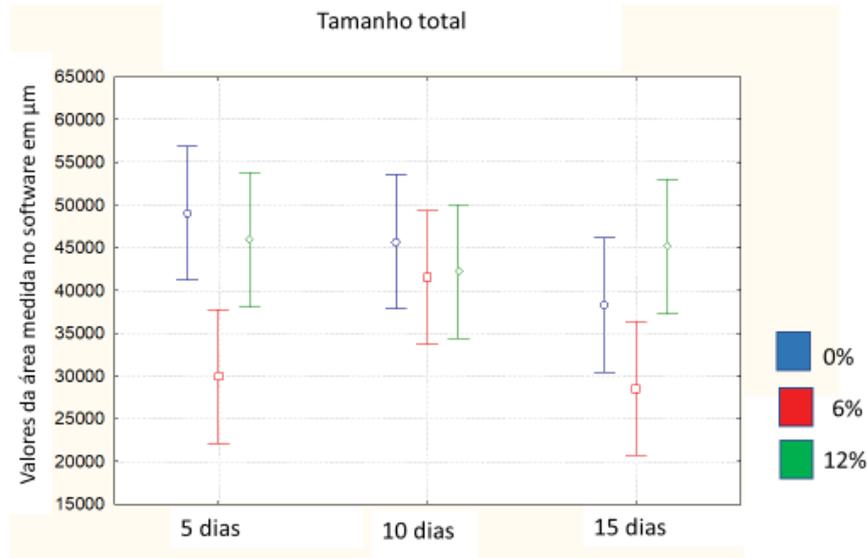


Figura: 10: Tamanho médio dos ovos nos diferentes tratamentos ao longo dos estágios de desenvolvimento. (as barras definem o desvio padrão dentro dos tratamentos, determinando os intervalos)

A medida em que ocorre o desenvolvimento embrionário no ovo de *M. rosenbergii*, pode ser visualizado na figura 10, que nos tratamentos com 0 e 12 de salinidade houve uma pequena queda no tamanho da área medida, ao longo do desenvolvimento comparando-se até o décimo quinto dia, enquanto o tratamento salinidade 6 nos intervalos de 5 para 10 dias observa-se um aumento expressivo na área analisada, posteriormente até o décimo quinto dia ocorre uma ligeira queda, demonstrando ser similar aos demais tratamentos neste período. E isso pode ter acontecido pela maior absorção de água pelo ovo na salinidade indicada, conforme Clarke, Brown e Holmes (1990). Não foram feitas observações de ovos a partir de 20 e 23 dias nos tratamentos de 6 ‰ de salinidade, pois os ovos remanescentes eclodiram entre o décimo quinto e vigésimo dia deste tratamento. No entanto, observações nos tratamentos de 0 ‰ e 12 ‰ foram realizadas conforme mostra a figura 11. Onde se observa certa similaridade em relação aos tamanhos apresentados pelos dois tratamentos. As diferenças no estágio E5 (23 dias) se devem principalmente pela baixa presença de ovos no tratamento salinidade 12.

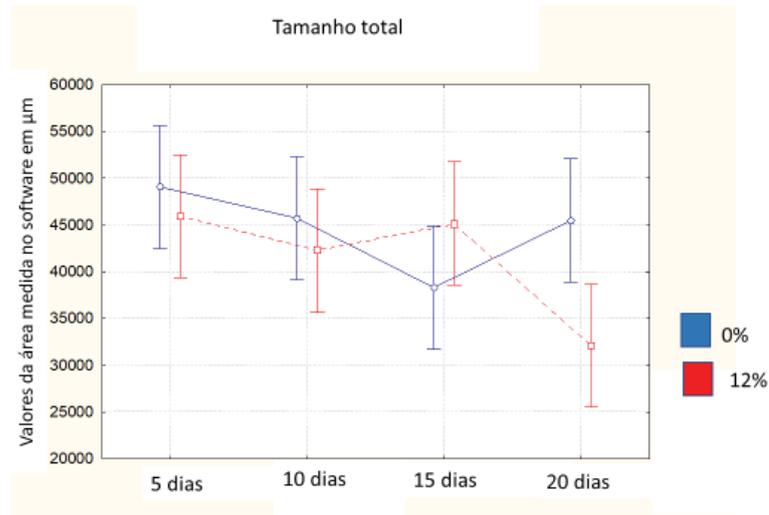


Figura 11. Comparativo do tamanho total da área dos ovos nos tratamentos de 0 e 12 de salinidade. (as barras definem o desvio padrão dentro dos tratamentos, determinando os intervalos)

A análise histológica mostra a diferenciação celular ao decorrer do desenvolvimento, mostrando aglomerados de células dando origem ao embrião, e a organização das células para a construção das partes do futuro camarão. É possível ainda a visualização do indicio da formação do olho nas figuras 3 e 4, de forma ainda rudimentar já a partir do décimo dia de incubação, corroborando com resultados obtidos por Caceci et al. (1996).

Desta forma é possível inferir que a absorção de vitelogenina acontece no ovo, possibilitando o rearranjo das biomoléculas na construção do embrião. Ainda é possível visualizar que os tratamentos diferem entre si, quando comparados ao tamanho dos espaços formados e do deslocamento do material, sendo que para os tratamentos de salinidade intermediário (6 ‰) ocorreu de forma mais rápida em relação ao tratamento controle e o tratamento com 12‰ (Tabela 3). Outra observação pertinente se dá quando observamos a figura 9. que mostra aos 23 dias de desenvolvimento a ruptura da parede do ovo sugerindo uma eclosão, que também na amostra com 20 dias (Figura 8) que levou a desintegração total do ovo, indicando a eclosão antes mesmo dos 20 dias no tratamento 6‰.

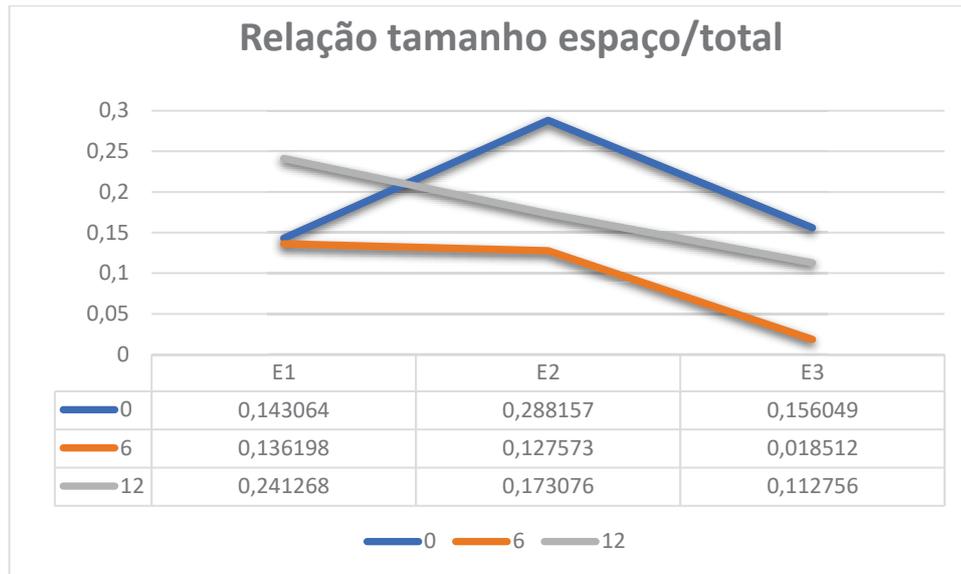


Figura 12. Relação entre tamanho total médio dos ovos e tamanho médio dos espaços vazios formados durante o desenvolvimento do embrião.

De acordo com dados obtidos a partir da análise de medição de áreas vazias pode se observar uma maior distribuição ou movimentação dos componentes celulares, sendo estes concentrados no embrião, estima-se que um bom percentual da proteína presente no ovo tenha sido movimentado para a construção do embrião. Essa proteína, em sua grande maioria constituída por vitelogenina, tem papel fundamental no crescimento do camarão. Atua como precursora de outras moléculas que dão origem aos sistemas internos.

Na figura 1 observa-se no tratamento 6‰ de salinidade uma relação menor no tamanho dos espaços observados que eram ocupados pela vitelogenina com o tamanho total do ovo, em comparação com os tratamentos 0‰ e 12‰ que mantiveram a relação muito próxima, indicando similaridade estatística. Esse efeito pode ter sido a adaptabilidade acelerada no T6, onde o organismo entende que está sofrendo um estresse ambiental, e como estratégia de sobrevivência se adapta o mais rápido possível. Do ponto de vista morfológico nenhum dos tratamentos apresentou diferenças significativas nas amostras coletadas. Como pode ser observado nas figuras, todos os ovos em algum momento atingem a fase final, terminando o ciclo precocemente ou tardiamente conforme Ogasawara, 1984; Yamaguchi, 2001; Manush et al. 2006. Inferimos então, que o tratamento com salinidade 6‰ possibilitou uma resposta de maior crescimento nos ovos no mesmo período, apresentando eclosão em menor tempo.

Ao término do experimento, praticamente 100% dos ovos utilizados eclodiram em todos os tratamentos, muito embora, com 6 ‰ de salinidade, foi possível visualizar ovos ainda íntegros somente com 15 dias, e que no vigésimo e vigésimo terceiro dia, apesar da coleta não foram observados ovos íntegros, apenas restos de células, que sugerem a eclosão deste

tratamento entre os 15 e 20 dias, de modo que outros trabalhos (OGASAWARA, 1984; YAMAGUCHI, 2001; MANUSH et al. 2006) corroboram estes resultados que também foram realizados verificando o período embrionário de *M. rosenbergii*, independentemente de salinidades diversas.

Os crustáceos de ambientes de águas mais quentes têm tipicamente um desenvolvimento embrionário mais curto na ordem de vários dias a semanas (Yamaguchi, 2001). No presente trabalho, os ovos de *M. rosenbergii* eclodiram em 15 a 20 dias a 28 °C. Estes resultados estão de acordo com outros relatos de Ogasawara (1984) que indicaram que os ovos de *M. rosenbergii* eclodiram em 25 dias a 26 °C, 20 dias a 28 °C, e em 17 dias a 32 C. Além disso, Manush et al. (2006) encontraram uma relação linear direta entre as taxas de desenvolvimento com a temperatura de incubação. Embora neste trabalho a salinidade também fora avaliada.

O desenvolvimento embrionário é um processo complexo no qual a diferenciação e proliferação celular ocorrem simultaneamente, mas em taxas diferentes (Gould, 1977). Tanto a organogênese quanto o crescimento somático são controlados por atividades enzimáticas. O desenvolvimento embrionário depende principalmente da expressão diferencial de certos genes e temperatura (Ojanguren e Brana, 2003) e as taxas de suas funções biológicas dependem criticamente da temperatura ambiente.

Os trabalhos de Habasy et al. 2012 mostraram que o desenvolvimento embrionário de *M. rosenbergii* baseou-se em oito diferentes eventos maiores. Esse achado foi concordante com Muller et al. (2003), que descreveu o desenvolvimento embrionário de *M. olffersii*. O mesmo achado foi relatado por Sandeman e Sandeman (1991), Garcia-Guerrero et al. (2003), Garcia-Guerrero e Hendrickx (2004, 2006). Isso se deve ao fato de que a separação entre os principais eventos da embriogênese nos crustáceos nem sempre é distinta, e alguns eventos podem começar antes do término do anterior, tornando a separação em eventos pouco clara quando o processo é contínuo.

Durante os estágios iniciais do desenvolvimento embrionário sua morfologia é semelhante à de outros vertebrados e invertebrados descritos até agora (FUJIMOTO et al., 1976, 1977; GINSBURG et al., 1990 GIMSBURG, 1997). São grandes células redondas contendo grandes núcleos, o que está de acordo com as observações feitas por Damarongphol e Jarosenstraraks (2001). Para Habasy et al. 2012, as células geradoras primordiais de *M. rosenbergii* no citoplasma são granuladas, assemelhando-se àquelas observadas no inseto *D. melangaster* (MAHOWALD, 1971; TAJIMA et al., 1998), codornas (YOSHINAGA et al., 1993; PRANEET e PLEANPHIT, 2001). Isto pode responder a similaridade no mecanismo de migração das células, funcionando como uma fonte de energia. Em rato, sugere-se que essas

células promovem sua migração passiva junto com o movimento morfogenético durante a gastrulação (JEON e KENNEDY, 1973).

O tamanho do ovo é característico da espécie entre os decápodes. Se correlaciona com o estágio de desenvolvimento e serve como um indicador do conteúdo energético (HERRING, 1974). Geralmente, espécies com ovos de tamanho grande contêm mais nutrientes da gema e seu tempo de desenvolvimento embrionário é maior. Habasy et al. (2012), mostra que o tamanho do ovo de *M. rosenbergii* aumentou gradualmente durante a embriogênese de 563,3 a 710  $\mu\text{m}$  (lado estreito) e de 681,7 a 797,5  $\mu\text{m}$  (lado largo) e pode ser considerado pequeno, típico das espécies de *M. rosenbergii*. Similarmente concordando com Lara e Wehrtmann (2009) sobre *M. carcinus* em relação ao aumento gradual na embriogênese. Em comparação com outras espécies de crustáceos, verificou-se que os ovos das espécies investigadas são muito menores. do que o lagostim de água doce, *Cherax quadricarinatus* e *Alepheus saxidomus* (0,247  $\text{mm}^3$ ) para ambas as espécies (WEHRTMANN e GRAEVE, 1998) e *Nephrops norvegicus* (1,406  $\text{mm}^3$ ) (ROSA et al., 2003), mas é mais longo que o de *Palaemonetes schmitti* (0,056  $\text{mm}^3$ ) (WEHRTMANN e GRAEVE, 1998). Ao que parece, o volume do ovo se relaciona pouco com o conteúdo lipídico. O volume de ovo de *M. rosenbergii* é um terço de *A. soxidomus*, um décimo oitavo de *N. norvegicus*, mas maior que *P. schmitti*. No entanto, os ovos de *M. rosenbergii* continham mais lipídios (cerca de 30%) do que *A. soxidomus*, *P. schmitti*, *Nauticaria mateianice*, *Betaeus emarginatus* e *N. norvegicus* (WEHRTMANN e GRAEVE, 1998; ROSA et al., 2003)

## 5. Considerações finais

De acordo com as observações dos trabalhos disponíveis, podemos apenas inferir que a vitelogenina migrou, e por ser considerada uma lipoproteína vital na constituição no novo embrião do *M. rosenbergii*, sua atuação é relevante. A velocidade dessa migração pode ter sido intensificada com a influência da temperatura (28°) e salinidade 6‰, conforme demonstrado neste trabalho, sendo assim, os baixos níveis de salinidade interferem nessa velocidade, permitindo uma eclosão em um tempo relativamente menor, em relação a 0‰ e 12‰. O que em outros aspectos pode significar a exigência de um nível mínimo de salinidade para uma otimização da eclosão. Não podemos, entretanto, afirmar a quantidade de vitelogenina que migrou nesta velocidade com apenas estes dados, mas uma sequência neste trabalho deve revelar uma melhor compreensão da composição do vitelo e suas respectivas quantidades.

A medida do crescimento e em relação a salinidade pode ser observado que com salinidade intermediarias tem-se resultados mais rápidos no desenvolvimento do embrião, dessa forma é possível inferir a necessidade de mais trabalhos que revelem a real contribuição da vitelogenina na embriogênese do camarão gigante da Malásia, e que pode se observar neste é que o nível de salinidade mais adequado seria o 6‰.

## Referências

- ADIYOD, R. G.; SUBRAMONIAM, T. Arthropoda – Crustácea. In: Reproductive Biology of Invertebrates: Oogenesis, Oviposition and Oosorption (eds. ADIYOD, K. G.; ADIYOD, R. G.), v. 1. London: John Wiley e Sons, 1983;
- AMMAR, D; MULLER, Y.M.R.; E.M. NAZARI. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann), (Crustacea, Decapoda: Palaemonidae) coletados na ilha de Santa Catarina. Brasil. Revista Brasileira de Biologia. 2001;
- ANDERSON, D. T. Embryology and phylogeny in annelids and arthropods: Oxford. Pergamon Press. 1-495 p. 1973.
- ANTUNES, L. D. S.; OSHIRO, L. M. Y. Aspectos reprodutivos do camarão de água doce *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880) (Crustácea, Decapoda, Palaemonidae) na Serra do Piloto, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, v. 21, n. 2, p. 261-266. 2004.
- ARAUJO, M. C. Efeitos da salinidade, luminosidade e alimentação na larvicultura do camarão-da-Amazônia, *Macrobrachium amazonicum*. 2001. 87 p. Tese de Doutorado, Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2005.
- BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. Theory and Practice of Histological Techniques. 5a ed. New York. Churchill Livingstone. 796 p. 2002.
- BARRETO, A. V.; SILVA, J. R. F.; KATSURAGAWA, M.; RAPOSO, M. C. F. Desenvolvimento dos ovários da lagosta *Panulirus echinatus* (Crustacea: Palinuridae) baseado nas análises macroscópicas, microscópicas e relação gonadossomática (RGS). Revista Brasileira de Zoologia, v. 25. 2008;
- BELL, T. A., LIGHTNER, D. V. A handbook of normal penaeid shrimp histology. Baton Rouge, L.A. World Aquaculture Society, 1988;
- BELTZ, B.S., HELLUY, S.M., RUCHHOEFT, M.L., GAMMILL, L.S., Aspects of the embryology and neural development of the *American lobster*. J. Exper. Zool. 261, 288–297. 1992.
- BIALETZKI, A.; NAKATANI, K.; BAUMGARTNER, G.; BOND-BUCKUP, G. Occurrence of *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palaemonidae) in Leopoldo's inlet (Ressaco do Leopoldo), upper Paraná river, Porto Rico, Paraná, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 379 –390. 1997.
- BLIGH, E.G., DYER, W.J.,. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911–917. 1959
- BOOCK, M.V., SUSSEL, F.R., FERREIRA, T.M., LAUDELINO, J.D., MARQUES, L.A., Desempenho produtivo do camarão *macrobrachium rosenbergii* em viveiro escavado revestido com geomembrana. Revista Cultivando o Saber, v.8, n4 2015.

BRADFORD, M., A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–253. 1976

BRESSAN, C. M.; MÜLLER, Y. M. R. Characterization of embrionized nauplius development of *Macrobrachium acanthurus* (Crustacea, Decapoda). *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, v. 14, n. 2, p. 243 – 246. 1997.

BRESSAN, C. M.; MÜLLER, Y. M. R. Postnaupliar embryonic development of *Macrobrachium acanthurus* (Crustacea, Decapoda). *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, v. 16, n. 2, p. 155 – 160. 1999.

BROWDY, C. L. Aspects of the reproductive biology of *Penaeus semisulcatus* de Haan (Crustacea; Decapoda, Penaeidae). 1989, 138f. Ph.D. Thesis, Tel Aviv University, Israel, 1989;

BROWN, J.H.,. Freshwater prawns. In: Nash, C.E. (Ed.), *Production of Aquatic Animals*, World Animal Science C4, pp. 31–43. 1991

CACECI, T., CARLSON, C.B., TOTH, T.E., SMITH, S.A.,. In vitro embryogenesis of *M. rosenbergii* larvae following in vivo fertilization. *Aquaculture* 147, 169–175. 1996

CARVALHO F. J. M. O. Reprodução de crustáceos peneídeos endocrinologia e ultrastrutura da ovogénese -Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Portugal -1997;

CARVALHO, H. A. Morfologia do aparelho reprodutor de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) Parte I –Masculino. *Ciência e Cultura*. v. 32, 1980;

CARVALHO, H. A., Ciclo sexual de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann,1836) (Crustacea: Decapoda): relações com fatores abióticos e ciclo de intermudas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1978;

CARVALHO, H. A.; PEREIRA, M. C. G. Descrição dos estádios ovarianos de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Palaemonidae) durante o ciclo reprodutivo. *Ciência e Cultura*. v. 33, 1981;

CAVALLI, R. O.; LAVENS, L P., SORGELOOS, P. Reproductive Performance of *Macrobrachium rosenbergii* Females in Captivity *Journal Of The World Aquaculture Society* Vol. 32, No. 1 2001;

CAVALLI, R. O.; TAMTIN, M.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Variations in lipid classes and fatty acid content in tissues of wild *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) females during maturation. *Aquaculture*, v. 193, n. 3, p. 311-324, 2001.

CAVALLI, R.O.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture*, 179(1-4): 387–402. 1999

CELADA J. D.; CARRAL J. M.; GONZALEZ J. A Study on the Identification and Chronology of the Embryonic Stages of the Freshwater Crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858). *Crustaceana*, v. 61, n. 3, p. 225 – 232. 1991.

CHANG, C. F.; SHIH, T. W. Productive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction and Development*, v. 27, 1995;

CHANG, C. F.; SHIH, T. W. Reproductive cycle of ovarian development and vitellogenin profiles in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction and Development*, v. 27, n. 1, p. 11 – 20. 1995.

CHARMANTIER, G.; MOUNET-GUILLAUME, R. Temperature-specific rates of embryonic development of the European lobster *Homarus gammarus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 16, p. 61 – 66. 1992.

CHARNIAUX COTTON, H.; PAYEN, G. G.; GINSBURGER-VOGEL, T. Arthropoda Crustacea: sexual differentiation. In: K. G. Adiyodi & R. G. Adiyodi (eds.), *Reproductive biology of invertebrates*. New York. John Wiley & Sons, v. 5, p. 281 - 324. 1992.

CHARNIAUX-COTTON, H.; PAYEN, G. Reproduction in malacostraca crustacean. In: *Endocrinology of Selected Invertebrate Types* (eds. Laufer, H.; Downer, R. G.H.), p. 177-186. *Invertebrate Endocrinology*, v. 2, New York: Elsevier. 1980;

CHAVES, P. T.; MAGALHÃES, C. O desenvolvimento ovocitário em *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustácea: Decapoda: Palaemonidae), camarão dulcícola da região amazônica. *Acta Amazônica*. v. 23, 1993;

CHEN, Y.X., DU, N.S., LAI, W.,. Lipid composition variation during the embryonic development in the Chinese crab *Eriocheir sinensis*. *J. East China Normal University (Natural Science Edition: Spec. Issue Zool.)* 32–36. 1998

CHOUDHURY P.C. Laboratory rearing of larvae of the palaemoni: shrimp *Macrobrachium acanthurus* Wiegmann, 1836. *Crusta* 21: 113-125; 1971;

CLARKE, A., BROWN, J.H., HOLMES, L.J.,. The biochemical composition of eggs from *M. rosenbergii* in relation to embryonic development. *Comp. Biochem. Phys. B* 96, 505–511. 1990

CORREIA, E. S.; CAVALCANTI, L. B.; CORDEIRO, E. A. Camarão: manual de cultivo do *Macrobrachium rosenbergii* (Pitu havaiano - gigante da Malásia). Recife: Aquaconsult, 1986;

COSTA, D. D. M. Caracterização da vitelogênese em *Rhamdia quelen* e sua aplicação no monitoramento de desreguladores endócrinos. Curitiba, 2012;

CUNHA, C. H., A influência da ablação unilateral do pedúnculo ocular e a reprodução do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) em cativeiro. UFRRJ - 2008;

CUTOLO, M. A., Efeitos da salinidade, luminosidade e alimentação na larvicultura do camarão-da-amazônia, *Macrobrachium amazonicum*. 2005. Tese (Doutorado em Aquicultura)

– Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2005

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

DA SILVA, R. R.; SAMPAIO C. M. S.; SANTOS, J. A. Fecundity and fertility of *Macrobrachium amazonicum* (Crustacean, Palaemonidae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 67, n. 3a, p. 489 - 500. 2004.

DAHL, E. Malacostracan phylogeny and evolution. In: F. R. Schram (ed.), *Crustacean phylogeny*, *Crustacean Issues*, v. 1, p. 189-212. 1983.

DALLACQUA, R.P., Análise comparativa da expressão de vitelogenina em três espécies de abelhas sem ferrão (meliponini) que diferem quanto a atividade reprodutiva Ribeirão Preto – 2005;

DAMARONGPHOL, P., JAROSENSTRARAKS, P., Morphology and regional distribution of the primordial germ cells in the giant freshwater prawn, *M. rosenbergii*. *Science Asia* 27, 15–19. 2001

DAVERY K. G.,. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. *Journal of Insect Physiology* 2007;

DE GRAVE, S.; CAI, Y.; ANKER, A. Global diversity of shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) in freshwater. *Hydrobiologia*, v. 595, p. 287 – 293. 2008.

DHADIALLA T.S., RAIKHEL A.S. Biosynthesis of mosquito vitellogenin. *Biological Chemistry* 1992;

DOHANIK, V. T., O transporte de vitelogenina é mediado por receptores de membrana nas células foliculares da abelha *Apis mellifera* e da vespa *Polistes simillimus* – Viçosa, MG, 2016;

DUGGER, D. M.; DOBKIN. S. A contribution to knowledge of the larval development of *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, Lieden, v. 29, p. 1-30, 1975;

DUMONT L. F. C. Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas do camarão-barbaruça (*Artemesia longinaris* - Decápode: Penaeidae) Depto de Oceanografia, Fundação Universidade do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS. 2004;

DUPRÉ, E.; BELLOLIO, G.; LOHRMANN, K. Desarrollo embrionario del camarón de roca (*Rhynchocinetes typus*, H. Milne Edwards 1837), em condiciones de laboratorio. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 65, p. 435 -442. 1992.

FELGENHAUER, B. E.; ABELE, L. G. Phylogenetic relationships among shrimp-like decapods. In: F. R. Schram (ed.), *Crustacean phylogeny*, *Crustacean Issues*, v.1, p. 291 - 311. 1983.

FIORONI, P. Allgemeine und vergleichende Embryologie der Tiere. Berlin Springer Verlag, p. 1 - 429. 1992.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura Y La Alimentación/FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura Roma/Itália, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Glossary of Aquaculture. Compiled by Valerio Crespi and André Coche. Italy, Rome, 401 p. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Yearbook of fishery statistics: summary tables. Roma. Disponível em: <http://www.fao.org/fi/STAT/summary/default.htm#aqua>. 2009.

FREIRE, C. A.; McNAMARA, J. C. Fine structure of the gills of the fresh-water shrimp *Macrobrachium olfersii* (Decapoda): effect of acclimation to high salinity medium and evidence for involvement of the lamellar septum in ion uptake. Journal of Crustacean Biology, v. 5, 1995;

FREIRE, J.L.\*; MARQUES, C. B. & SILVA, B. B. Estrutura populacional e biologia reprodutiva do camarão-da-Amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller,1862) (Decapoda:Palaemonidae) Em Um Estuário Da Região Nordeste Do Pará, BRASIL Universidade Federal do Pará - Instituto de Estudos Costeiros 2012;

FUJIMOTO, T., MIYAYAMA, Y., FUTYUTA, M., The origin migration and fine morphology of human primordial germ cells. Anat. Rec. 188, 315–330. 1977

FUJIMOTO, T., NINOMIYA, T., UKESHIMA, A., Observations of the primordial germ cells in blood samples from the chick embryo. Dev. Biol. 49, 278–282. 1976

FUKUDA, M.V., YUNDA-G

GARCÍA-GUERRERO M.; HENDRICKX M. E. Embryology of decapod crustaceans I. Embryonic development of the mangrove crabs *Goniopsis pulchra* and *Aratus pisonii* (Decapoda: Brachyura). Journal of Crustacean Biology, v. 24, n. 4, 666 - 672. 2004.

GARCÍA-GUERRERO M.; HENDRICKX M. E. Embryology of decapod crustaceans, II: Gross embryonic development of *Petrolisthes robsonae* (Glassell, 1945) and *Petrolisthes armatus* (Gibbes, 1850) (Decapoda, Anomura, Porcellanidae). Crustaceana, v. 78, n. 9, p. 1089 - 1097. 2006.

GARCÍA-GUERRERO M.; HENDRICKX M. E. Embryology of decapod crustaceans, III: Embryonic development of *Eurypanopeus canalensis* Abele & Kim, 1989, and *Panopeus chilensis* H. Milne Edwards & Lucas, 1844 (Decapoda, Brachyura, Panopeidae). Belgian Journal of Zoology, v. 136, n. 2, p. 249 - 253. 2006.

GARCÍA-GUERRERO, M.; HENDRICKX, M. E. External description of the embryonic development of the prawn, *Macrobrachium americanum* bate, 1868 (Decapoda, Palaemonidae) based on the staging method. Crustaceana, v. 82, n. 11, p. 1413 - 1422. 2009.

GARCÍA-GUERRERO, M.; HENDRICKX, M. E.; VILLARREAL, H. Description of the embryonic development of *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) (Decapoda, Parastacidae), based on the staging method. Crustaceana, v. 76, n. 3, p. 269-280. 2003.

GIESE, A.C., PEARSE, J.S., Reproduction of Marine Invertebrates, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 1-546. 1974.

GILBERT, S. F. Developmental Biology. 9a ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts USA. 711 p. 2010

GIMENEZ, L., ANGER, K., Relationships among salinity, egg size, embryonic development, and larval biomass in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 260, 241-257. 2001

GIMSBURG, M., Primordial germ cell development in avians. Poul. Sci. 76, 91-95. 1997.

GINSBURG, M., HOCHMAN, J., EYAL-GILADI, H., Immuno-histochemical analysis of the segregation process of the quail germ cell lineage. Int. J. Dev. Biol. 33, 389-395. 1989

GINSBURG, M., SNOW, M.H.L., MCLAREN, A. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. Development 100, 521-528. 1990

GIOVANNETTI, N. Caracterização do ciclo da vitelogênese do camarão de água doce *macrobrachium olfersi* (Wiegmann, 1836) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). Rio Claro-2010;

GODIN, I., WILIES, C., HEASMAN, J., genital ridges exert longrange effects on mouse primordial germ cell numbers and directions of migration in culture. Development 108, 357-363. Gould, S.J., 1977. Ontogeny and Phylogeny. The Bekanp Press of Harvard University Press, Cambridge, HA. 1990.

GOMES, M. G.; MACHA, N.; SAWAYA, P.; CARVALHO, H. A. Histoquímica dos ovários de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836), nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal. II Lipídeos. Boletim de Fisiologia Animal, Univ. S. Paulo, v. 3. 1979;

GRAZIANI, C; MORENO, C; VILLARROEL, E .; ORTAT; LODEIROS, C; DONATO,MD Hibridização entre camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) e *M. carcinus*(EU.). Aquiculture. 217, p. 81-91, 2003

GRAZIANI, CA, DONATO, M., CHUNG, KS Salinidades ótimas em larvas e post-larvas de *Macrobrachium carcinus*(L.) (Decapoda: Palaemonidae). Bol. Inst. Oceanogr.Venezuela 34, p. 33-40, 1995.

GRAZIANI, CA; CHUNG, KS; DONATO, M. Comportamiento reproductivo y fertilidade de *Macrobrachium carcinus*(Decapoda: Palaemonidae) em Venezuela. Revista de Biologia Tropicalv 41, n. 3Ap. 657-665, 1993.

GREEN, J. Chemical embriology of the Crustacea. Biological Review. Cambridge, v. 40, p. 580 - 600.. 1965

GUEST, W. C. Laboratory life history of the palaemonid shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Heller) (Decapoda, Palaemonidae). Crustaceana, Leiden. v. 37, n. 2, p. 141 - 152. 1979

HABASHY, MM, Hassan, MMS . Efeitos da temperatura e salinidade no crescimento e reprodução do camarão de água doce, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea - Decapoda) no Egito . Revista Internacional de Ciência e Engenharia Ambiental , 1 , 83-90. 2011

HABASHY, MM, SHARSHAR, KM e HASSAN, MMS. Estudos morfológicos e histológicos sobre o desenvolvimento embrionário do camarão de água doce, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapoda) . O Journal of Basic & Applied Zoology , 65 , 157-165. 2012

HARTNOLL, R. G. GROWTH. In: L. G. ABELE (ed.), Embryology, morphology and genetics. The biology of Crustacea. New York, Academic Press, v. 2, p. 111 - 196. 1982.

HAYD, L. A. Ciclo de muda e metabolismo durante o desenvolvimento larval do camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862). 2007. 87p. Tese de Doutorado, Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.

HELLUY, S. M.; BELTZ, B. S. Embryonic development of the American lobster (*Homarus americanus*): Quantitative staging and characterization of an embryonic molt cycle. Woods Hole, Biological Bulletin, v. 180, p. 355 - 371. 1991.

HELLUY, S.; BELTZ, B. S. Stages in the embryonic development of the *American lobster* with special emphasis on its nervous system. In: K. Wiese, W. D. Krenz, J. Tautz, H. Heichert & B. Mulloney (eds.), Frontiers in Crustacean neurobiology. v. 1, p. 530 - 536. 1990.

HELLUY, S.; SANDEMAN, R.; BELTZ, B.; SANDEMAN, D. Comparative brain ontogeny of the crayfish and clawed lobster: Implications of direct and larval development. Journal of Comparative Neurology, v. 335, p. 343 - 354. 1993.

HERRING, P.J.,. Size, density and lipid content of some decapod eggs. Deep Sea Res. 21, 91–94. 1974

HERTZLER, P. L. Cleavage and gastrulation in the shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* (Malacostraca, Decapoda, Dendrobranchiata). Arthropod Structure & Development, v. 34, p. 455 – 469. 2005.

HERTZLER, P. L. Development of the mesendoderm in the dendrobranchiate shrimp *Sicyonia ingentis*. Arthropod Structure & Development, v. 31, p. 33 – 49. 2002.

HERTZLER, P. L.; WANG, S. W.; CLARK, W. H. Jr. Mesendoderm cell and archenteron formation in isolated blastomeres from the shrimp *Sicyonia ingentis*. *Developmental Biology*, v. 164, p. 333 - 344. 1994.

HOLTHUIS, L.B. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaenominae. *Occasional Papers of the Allan Hancock Foundation*, v. 12, p. 1 - 339. 1952.

JAY CHANDRAN, K.V., JOSEPH, N.I., A key for the commercially important *Macrobrachium spp.* of India-with a review of their bionomics. In: Silas, E.G. (Ed.), *Freshwater Prawn Proceeding of National Symposium on Freshwater Prawns, Macrobrachium spp.*, 12-14 December, 1990, Kochi, Kerala Agriculture University, Thrissur, pp. 72-77. 1992.

JEON, K.W., KENNEDY, J.R.,. The primordial germ cells in early mouse embryo: light and electron microscopic studies. *Dev. Biol.* 31, 275-283. 1973

JOHN S. N . Embryonic development and larval culture in a commercially important Portunid crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst) Ph.D. Thesis, Annamali University: 1-142.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Santos, 1983;

KING, J. E. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus). *Biological Bulletin*, v. 94,1948;

KROLL, R. M.; HAWKINS, W. E.; OVERSTREET, R. M. Reproductive components. In: Harrison, F. W.; Humes, A. G. *Microscopic Anatomy of Invertebrates, Volume 10: Decapod Crustacea*. New York: Wley-Liss Inc, 1992;

KUTTY, M. N.; HERMAN, F.; LE MENN, H. Culture of other prawn species. In: NEW, M.B.; VALENTI, W.C. *Freshwater prawn culture: The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Oxford: Blackwell Science. cap. 21, p. 393 - 410. 2000.

LAEMMLI U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* -1970;

LAFMM,. Recommended Methods of Analysis for Determination of Moisture in Fish Meal, vol. 9. International Association of Fish Meal Manufactures, Technical Bulletin. 1979

LARA, L.R., WEHRTMANN, I.S., Reproductive biology of the freshwater shrimp *Macrobrachium carcinus* (L) (Decapoda: Palaemonidae) from Costa Rica, Central America. *J. Crust. Biol.* 29 (3), 343-349. 2009

LING, S.W., MERICAN, A.B.O. Notes on the life and habits of the adults and larval stages of the *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Proc. Indo-Pacific Fish. Conn.*, Bangkok, 1961;

LOBÃO, V. L. Camarão-da-Malásia : larvicultura I. - Brasília: Embrapa-SPI, 1996;

LOBÃO, V.L.; LOMBARDI, J.V.; ROVERSO, E.A.; MARQUES, H.L.A.; HORTÊNCIO, E.; MELO, S.G.. Efeitos de rações de origem animal e vegetal na engorda de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). Bol. Inst. Pesca 22. 1995;

LOBÃO, V.L.; ROJAS, N.E.; VALENTI, W.C. Fecundidade e fertilidade de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda) em laboratório. Boletim do Instituto de Pesca, 13(2): 15-20. 1986

LOMBARDI, J. V.; LOBÃO, V. L. Receitas culinárias com o camarão gigante da Malásia. Boletim Técnico do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 1, 1992;

LOPES, C.; MALHÃO, F.. Curso de Técnicas Histológicas: Projeto Aprender a Conhecer o Ambiente Marinho de Portugal. Porto - Portugal: Biomar Pt, 2016. 57 p.

LOUZADA, Ramon; AMARAL, Atanásio Alves do; HERMES, Cesar Ademar. EFEITO DA SALINIDADE SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DO CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *Macrobrachium carcinus*. Xi Encontro Latino Americano de Pós-graduação – Universidade do Vale do Paraíba. Alegre Es, p. 1-4. 27 fev. 2011.

LUO, W., ZHOU, Z.L., ZHAO, Y.L., YANG, Z.B., ZHANG, M.F.,. Analysis on the contents of protein and amino acids in *Cherax quadricarinatus* during different embryonic development stages (Chinese). J. East China Normal University Nature Science 1, 88– 92. 2004

MACIEL, C.R. VALENTI, W.C.. Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*: A review. Nauplius, 2009;

MAHOWALD, A.P.,. Polar granules of *Drosophila*. IV. Cytochemical studies showing loss of RNA from polar granules during early stages of embryogenesis. J. Exp. Zool. 176, 345–352. 1971

MALLASEN, M., VALENTI, W.C.. Criação de camarão-de-água-doce. Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão (FUNEP). Jaboticabal, SP. 2008;

MANN, C.J.; Anderson, T. A.; READ, J.; CHESTER, S.; HARRISON, G. B.; KOCHL, S.; RITCHE, P. J.; BRADBURY, P.; HUSSAIN, F.S.; AMEY, J.; VANLOO, B.; ROSSENEU, M.; INFANTE, R.; HANCOCK, J. M.; LEVITT, D.G.; BANASZAK, L. J.; SCOTT, J.; SHOULDERS, C. C. The structure of vitellogenin provides a molecular model for the assembly and secretion of atherogenic lipoproteins. Journal of Molecular Biology, v. 285, n.1, p 391-408, 1999.

MANUSH, S.M., PAL, A.K., DAS, T., MUKHERIJEE, S.C.,. The influence of temperatures ranging from 25 to 36 C on developmental rates, morphometrics and survival of freshwater prawn (*M. rosenbergii*) embryos. Aquaculture 256, 529–536. 2006

MARTINS, J.; RIBEIRO, K.; RANGEL-FIGUEIREDO, T.; COIMBRA, J. Reproductive cycle, ovarian development, and vertebrate-type steroids profile in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Crustacean Biology, v. 27, 2007;

- McNAMARA, J. C.; MOREIRA, G. S.; MOREIRA, P. S. Respiratory metabolism of *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) zoeae during the moulting cycle from eclosion to first ecdysis. *Biological Bulletin*, v. 159, 1980;
- McNAMARA, J.C. MOREIRA, G.S.; P. MOREIRA Thermal effects on metabolism in selected shrimps *macrobrachium olfersii* and *macrobrachium heterochiurus* (Decapoda, Palaemonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 1985;
- McNAMARA, J.C., SALOMÃO, L.C., E.A. RIBEIRO the effect of eyestalk ablation on hemolymph osmotic and ionic concentrations during acute salinity exposure in the freshwater shrimp *macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda). *Hydrobiolgy*. 1990;
- MEDINA, A.; VILA, Y.; MOURENTE, G.; RODRIGUES, A. A comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775). *Aquaculture*, v.77, 1996.
- MEERATANA, P., SOBHON, P. Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Mann). *Aquaculture*, v. 270, 2007;
- MELO, G. A. S. Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. Edições Loyola: Centro Universitário São Camilo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 2003;
- MENDES, A. I. C. Influência da dieta parental na qualidade lipídica Dos ovos e no desenvolvimento embrionário de Camarinha, *palaemonetes varians* UNIVERSIDADE DO ALGARVE Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente 2008;
- MOSSOLIN, E. C.; BUENO, S. L. S. Relative growth of the second pereopod in *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana*, v. 76, n. 3, 2003;
- MOSSOLIN, E. C.; BUENO, S. L. S. Reproductive biology of *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae) in São Sebastião, Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, v. 22, n. 2, 2002;
- MULLER, Y., NAXARI, E., SIMOES-COSTA, M., Embryonic stages of the freshwater prawn *Macrobrachium olfersii* (Decapoda, Palaemonidae). *J. Crust. Biol.* 32, 869–875. 2003
- MULLER, Y.M., PACHECO, C., SIMOES-COSTA, M.S., AMMAR, D., NAZARI, E.M., Morphology and chronology of embryonic development in *Macrobrachium acanthurus* (Crustacea, Decapoda). *Inverteb. Reprod. Dev.* 50 (20), 67–74. 2007
- MULLER, Y.M.R., AMMAR, D., NAZARI, E.M., Embryonic development of four species of Palaemonid prawns (Crustacea, Decapoda): pre-naupliar and postnaupliar periods. *Revta. Brasileira De Zool.* 21, 27–32. 2004
- MULLER, Y.M.R., NAZARI, E.M., AMMAR, D., The characterization of embryonic phases of prawn *P. pandaliformis* (Stimpson, 1871) (Crustacea, Decapoda). *Braz. J. Morphol. Sci.* 16, 161–166. 1999

MULLER, Y.M.R.; A.C. PRAZERES Influencia da salinidade e temperatura da água sobre a captura de *macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) coletados no canal da lagoa do Peri, Florianópolis-SC. Acta Limnologica Brasiliense. 1992;

MULLER, Y.M.R.; NAZARI, E.M.; AMMAR, D.; FERREIRA, E.C.; BELTRAME, I.T.; C. PACHECO. Biologia dos Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) da Bacia Hidrográfica de Ratoles, Florianópolis-SC. Revista Brasileira de Zoologia. 1999;

NAGAO, J., MUNEHARA, H., SHIMAZAKI, K., Embryonic development of *P. argentinus* Nobili, 1901 (Decapoda, Palaemonidae), reared in the laboratory. Crustaceana 73, 143–152. 1999

NAZARI, E., MULLER, Y., AMMAR, D., Embryonic development of Palaemonets *argentines* Nobili, 1901 (Decapoda, Palaemonidae), reared in the laboratory. Crustaceana 73, 143–152. 2000

NEGRÃO, J.N.C., Avaliação da atividade gonadal de machos e fêmeas de pesada branca, *Plagioscion squamosissimus* (heckel, 1840) no rio Pará-PA, Universidade Federal do Pará 2006;

NEW, M. & M. NAIR. Global scale of freshwater prawn farming. Aquaculture., 43. 2012;

NEW, M.B. Freshwater prawn culture: a review. Aquaculture, Amsterdam, v.88, 1990;

NEW, M.B. Freshwater prawn farming: global status, recent research and a glance at the future. Aquaculture Research, v. 36, 2005;

NEW, M.B., D'ABRAMO, L.R., VALENTI, W.C., SINGHOLKA, S., a. Sustainability of freshwater prawn culture. In: New, M.B., Valenti, W.C. (Eds.), Freshwater Prawn Culture: the Farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell, Oxford, pp. 429 – 443. 2002

NEW, M.B., SINGHOLKA, S., KUTTY, M.N., b. Prawn capture, fisheries and enhancement. In: New, M.B., Valenti, W.C. (Eds.), Freshwater Prawn Culture: the Farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Blackwell, Oxford, pp. 411 – 428. 2010

NEW, M.B.; L.R. D'ABRAMO; W.C. VALENTI ; S. SINGHOLKA. Sustainability of Freshwater Prawn Culture Pages. In: M. B. New, and W. C. Valenti, editors. 2005

NEW, M.B.; SINGHOLKA, S. Freshwater prawn farming: a manual for the culture of *Macrobrachium rosenbergii*. FAO Fisheries Technical Paper, v.225 ,1984;

ODINETZ-COLLART, O., MOREIRA, L.C., Potencial pesqueiro do camarão *Macrobrachium amazonicum* na Amazônia Central (Ilha do Careiro). Amazoniana 12, 399 – 413. 1993

ODINETZ-COLLART, O., RABELO, H., Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae). J. Crust. Biol. 16, 684–688. 1996

ODINETZ-COLLART, O., Ecologia e potencial pesqueiro do camarão canela, *Macrobrachium amazonicum*, na bacia amazônica. In: Ferreira, E.J.G., Santos, G.M., Leão,

E.L.M., Oliveira, L.A. (Eds.), Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia: Fatos e Perspectivas, vol. 2. INPA, Manaus, pp. 147 – 166. 1993

ODINETZ-COLLART, O.,. La peche crevette`re de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le BasTocantins apre`s la fermeture du barrage de Tucuruí. Revue D`hydrobiologie Tropicale 20, 131 – 144. 1987

O'DONOVAN, P.; ABRAHAM, M.; COHEN, D. The ovarian cycle during the intermoult in ovigerous *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, v. 36, 1984;

OGASAWARA, Y.F.,. Ecology of prawns and shrimp. In: Koizumi, C. (Ed.), Prawns of Japan and the World. Oxford & IBH publishing Co. Put. Ltd. pp. 29–93. 1984

OJANGUREN, A.F., BRANA, F.,. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. J. Fish Biol. 62, 580–590. 2003

PAVANELLI, C. A. M. Viabilidade técnica e econômica da larvicultura do camarão-da amazônia, *Macrobrachium amazonicum*, em diferentes temperaturas. Jaboticabal, 2010;

PÉREZ, L. A. V. Desenvolvimento larval de *Macrobrachium heterochirus* (Wiegmann, 1836), *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862), *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em laboratório. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico, USP, 1984;

PERKINS, H.C.,. Developmental rates at various temperatures of embryos of the northern lobster (*H. americanus* Milne-Edwards). Fish. Bull. 70, 95–99. 1972

PETERSEN, S., ANGER, K.,. Chemical and physiological changes during the embryonic development of the spider crab *Hyas arenus* (Decapoda, Majidae). Comp. Biochem. Physiol. B 117, 299–306. 1997

PIMENTEL, F. R., Taxonomia dos Camarões de Água Doce (Crustácea: Decapoda:Palaemonidae, Euryrhynchidae, Sergestidae) da Amazonia Oriental: Estados do Amapá e Para. Manaus: INPA-UFAM, 2003;

PINHEIRO JLP, SILVA MCN. Tambaqui (*Colossoma macropomum* – Cuvier, 1818): ampliação do período de desova. Brasília, Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), 1988;

PINHEIRO, M. A. A.; FRANSOZO, A. Sexual maturity of speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamark, 1818) (Crustacea, Brachyura, Portunidae) in the Ubatuba Littoral, São Paulo State, Brazil. Crustaceana, Leiden, v. 71, n. 4, 1998;

PINHEIRO, M.A.A. & HEBLING, N.J. Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879), p.21-46, in Valenti, W.C. (ed.), Carcinicultura de água doce. Tecnologia para produção de camarões. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília, 1998;

PRANEET, D., PLEANPHIT, J., Morphology and regional distribution of the primordial germ cells in the giant freshwater prawn, *M. rosenbergii*. Science Asia 27, 15–19. 2001

QUINITIO, E. T.; HARA, A.; YAMAUCHI, K.; MIZUSHIMA, T.; FUJI A. Identification and characterization of vitellin in a hermaphrodite shrimp, *Pandalus kessleri*. Comparative Biochemistry and Physiology, v. 94B, 1989;

RIBEIRO P. A. P., LOGATO P. V. R. Criação de camarões de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*) 2011;

RIBEIRO, C., C.; JORGE, Araújo, L. H. Produção de peixe em tanques-rede, SENAI/AM Escola SENAI Antônio Simões 2013;

RIBEIRO, K. Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal. 2006. 87 f. Tese de Doutorado. Centro de Aqüicultura, UNESP, 2006.

RODRIGUES, J. B. R.; RODRIGUES, C. C. B.; MACCHIAVELLO, J. G.; GOMES, S. Z.; BEIRÃO, L. H. Manual de cultivo do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* na região sul do Brasil. Florianópolis: ACARESC, 1991;

RÖNNAU, M. Transporte de vitelogenina no ovário de hymenoptera sociais – Viçosa, MG, 2013;

RONNAU, M., AZEVEDO, D. O., FIALHO, M. C. Q., GONÇALVES, W. G., ZANUNCIO, J. C., SERRÃO, J. E. . Changes in follicular cells architecture during vitellogenin transport in ovary of social Hymenoptera. Protoplasma. pp 1-6. 2015.

ROSA, R., MORAIS, S., CSLADO, R., NARCISO, H., NUNES, M.L., Biochemical changes during the embryonic development of Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. Aquaculture 221, 507–522. 2003

ROSSI, C., As proteínas do vitelo do nematóide entomopatogênico heterorhbditis baujardi LPP7 Universidade de São Paulo-2014

ROSSI, N. Revisão das espécies de *Macrobrachium*, Bate, 1868, pertencentes ao complexo *M. olfersii* (Crustacea, Palaemonidae): análises morfológicas e moleculares. Ribeirão Preto 2012;

RUDOLPH, E.H., ROJAS, C.S., Embryonic and early postembryonic development of the burrowing crayfish, *V. araucanius* (Faxon, 1914) (Decapoda, Parastacidae) under laboratory conditions. Crustaceana 76, 835–850. 2003

SADEK, S., MOREAU, J., Prawn *M. rosenbergii* culture in earthen ponds in Nile Delta Egypt. A study of culture parameters and cost benefits. The Israeli J. Aquacult. Bamidgheh, 201– 218. 1996

SAGI, A.; RA'ANAN, Z. Rapid identification of reproductive stat and the receptive period of female in pond populations of *Macrobrachium rosenbergii*. A new technique. Aquaculture, v. 48, 1985;

SANDEMAN, R., SANDEMAN, D., Stages in the development of the embryo of the freshwater crayfish *Cherax destructor*. Roux, s. Arch. Dev. Biol. 200, 27–37. 1991

SANDIFER, P. I., SMITH, T. I. Experimental aquaculture of the Malasian in South Carolina prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). FAO Tech. Conf. Aquacult. E, 1975;

SANDIFER, PA, SMITH, TIJ, Efeitos da densidade populacional no crescimento e sobrevivência do *Macrobrachium rosenbergii* criados em sistemas de gerenciamento de recirculação de água. Atas da Sociedade Mundial de Maricultura 6,43-53 SANDIFER, PA, SMITH, TIJ, 1978. Aquicultura de camarões da Malásia em ambientes. Tecnologia de Alimentos 32 (7), 36-38, 40-42, 44-45, 83 1975.

SAPPINGTON, T.W.; RAIKHEL, A.S. Molecular characteristics of insects vitellogenins and vitellogenin receptors. Insect Biochem. mol. biol., 1998;

SCHIERENBERG, E., Cytoplasm determination and distribution of development potential in the embryo of *Caenorhabditis elegans*. Bioassays 10, 99–104. 1989

SCHOLTZ G. Evolution of the nauplius stage in malacostracan crustaceans. J Zool Sys Evol Res Berlin 38: 175-187 2000.

SIEBERT, T. H. Análise do período de defeso do camarão marinho *Artemesia longinaris* através da maturação ovariana anual. 55f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Biologia Aquática) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, 2013.

SIEBERT, T. H. R. Dinâmica e imuno-histoquímica da vitelogênese durante o processo de maturação ovariana no camarão *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) – Jaboticabal, 2015;

SIMÕES-COSTA, M. S.; PACHECO, C.; NAZARI, E. M.; MÜLLER, Y. M. R.; AMMAR, D. Estagiamento de embriões de *Macrobrachium olfersi* (Wiegman) (Crustacea, Palaemonidae) através de critérios morfológicos nos dias embrionários. Revista Brasileira de Zoologia, v. 22, n. 2, 2005.

STEFANINI M., DEMARTINO, C., ZAMBONI, L., Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. Nature 216 – 1967.

SWEVERS, L., RAIKHEL, A. S., SAPPINGTON, T. W., SHIRK, P., IATROU, K. Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle. In Comprehensive Molecular Insect Science. Vol 3 (Gilbert, L. I., Iatrou, K. & Gill, S. S. eds), pp 87-115. Elsevier, Amsterdã. 2005.

TAJIMA, A., NAITO, M., YASUDA, Y., KUWANA, T., Production of germ line chimeras by transfer of cryopreserved gonadal primordial germ cells (PGCs) in Chick. J. Exp. Zool. 280, 265–270. 1998

TELFER, W.H. Immunological studies of insect metamorphosis: II. the role of a sex-limited blood protein in egg formation by the *Ceroia silkworm*. The Journal of General Physiology, v.37, n.4, p. 539-558, 1954.

VALENTI, W. C. (Ed.). Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões. IBAMA/FAPESP, 1998;

VALENTI, W. C. Estudo populacional dos camarões de água doce *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758) do rio Ribeira de Iguape (Crustacea, Palaemonidae). São Paulo, Universidade de São Paulo, Dissertação de Mestrado, 1984;

VALENTI, W. C., MELLO, J. T.C., LOBÃO, V.L. Dinâmica da Reprodução de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758) do Rio Ribeira de Iguape (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Ciência e Cultura*, 38(7). 1986;

VALENTI, W. C.. Carcinicultura de água doce no Brasil: mitos, realidade e perspectivas. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1, SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 10, SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE CULTIVO DE CAMARÕES, 5, Recife, 1998 Anais...p.199-206. 1998

VALENTI, W.C. Carcinicultura de Água Doce: Tecnologia para a Produção de Camarões. Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Brasília. 1998;

VALENTI, W.C.,. Cultivo de Camarões de água Doce. Nobel, São Paulo. 82 pp. 1985

VALENTI, W.C. Cultivo de camarões de água doce. 2a ed. Ed. Nobel, São Paulo. 81 p. 1986

VAN HANDEL, E.,. Estimation of glycogen in small amount of tissue. *Anal. Biochem.* 65, 256–276. 1965

VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: Eduem/SBI/CNPq/Nupelia, . 169p. 1996

VERDI, A. C. La estructura ovárica de *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) (Crustacea, Caridea, Palaemonidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 55, n. 2, 1995;

VOLPATO, G.L., HOSHINO, K.,. Adaptative process derived from the agonistic behavior in the freshwater prawn *Macrobrachium iheringii* (Ortmann, 1897). *Bolm Fisiologia Animal* 8, 157 – 163. 1984

WEHRTMANN, I.S., KATTNER, G.,. Changes in volume, biomass and fatty acids of developing eggs in *Nauticaris magellanica* (Decapoda, Caridea), a latitudinal composition. *J. Crust. Biol.* 18, 413–422. 1998

WEHRTMANN, L.S., GRAEVE, M.,. Lipid composition and utilization in developing eggs of two tropical marine Caridean shrimps (Decapoda: Caridea: Alpheida: Palaemonidae). *Comp. Biochem. Physiol. B* 121, 457–463. 1998

WIEGMANN, A.F.A. Beschreibung einiger neuen Crustaceen des Berliner Museums aus México und Braslien. *Arch. Naturgesch*, 1836

YAMAGUCHI, T.,. Incubation of eggs and embryonic development of the fiddler crab *Uca lacteal* (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae). *Crustaceana* 74, 449–458. 2001

YAO, J., ZHAO, Y.L., WANG, Q., ZHOU, Z.L., HU, X.C., DUAN, X.W., AN CHUAN, G.,. Biochemical compositions and digestive enzyme activities during the embryonic development of prawn, *M. rosenbergii*. *Aquaculture* 253, 573–582. 2006

YIN C.M., ZOU B.X., YI S.X; STOFFOLANO Jr J.G., Ecdysteroid activity during oogenesis in the black blowfly, *Phormia regina* (Meigen). *Journal of Insect Physiology*- 1990;

YOSHINAGA, K., NAKAMURA, M., KESHIMA, A.,. Ultrastructural characteristics of primordial germ cells in the quail embryo. *Anat. Rec.* 236, 547–552. 1993