

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/276248190>

Vibrio spp. em Hemolinfa de Camarões *Litopenaeus vannamei* Coletados em Três Fazendas de Cultivo do Estado do Ceará

Article in *Boletim Técnico Científico do CEPNOR* · December 2009

DOI: 10.17080/1676-5664/btcc.v9n1p141-149

CITATIONS

0

READS

57

5 authors, including:



Oscarina Sousa

Universidade Federal do Ceará

76 PUBLICATIONS 967 CITATIONS

SEE PROFILE



T.C.V. Gesteira

30 PUBLICATIONS 488 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



CEDECAM [View project](#)

VIBRIO spp. EM HEMOLINFA DE CAMARÕES *Litopenaeus vannamei* COLETADOS EM TRÊS FAZENDAS DE CULTIVO DO ESTADO DO CEARÁ

Cláudia Brandão Vieira ¹
 Oscarina Viana de Sousa ²
 Teresa Cristina Vasconcelos Gesteira ³
 Fátima Cristiane Teles de Carvalho ⁴
 Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira ⁵

RESUMO

O presente estudo objetivou relacionar o tempo de coagulação da hemolinfa de camarões *Litopenaeus vannamei* (cultivados em três fazendas do Estado do Ceará) com a sua contaminação por *Vibrio*, no período de outubro de 2005 a outubro de 2006. Foram realizadas 18 coletas e em cada uma foram analisados 10 exemplares de camarão com o tempo de cultivo variando de 60 a 120 dias. O intervalo do tempo de coagulação da hemolinfa dos camarões, nas três fazendas, nos dois períodos, variou de cinco a 55 segundos, nos 51 camarões que portavam *Vibrio*. Para os 129 não contaminados, o intervalo foi de quatro a 57 segundos. A Contagem Padrão em Placas (CPP) de *Vibrio* das hemolinfas dos 51 indivíduos, das três fazendas, nos dois períodos, variou de 10 a 28.000 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL. Para as fazendas A, B e C os intervalos das CPPs de *Vibrio* na hemolinfa, no período seco, foram, respectivamente de: 1.000, de 10 a 140, e de 1.000 a 28.000 UFC/mL. No período chuvoso esse intervalo variou de 10 a 2.000, de 110 a 1.000 e de 10 a 1.605 UFC/mL. Das 132 cepas isoladas das hemolinfas, dos camarões portadores de *Vibrio*, foram identificadas 13 espécies. A maior diversidade de vibrios nas três fazendas foi detectada por ordem decrescente: fazendas B, C e A. O período chuvoso favoreceu a contaminação das hemolinfas com *Vibrio*. A presença da bactéria na hemolinfa não teve relação com o seu tempo de coagulação.

Palavras-chave: Hemolinfa, tempo de coagulação, *Vibrio*, carcinicultura.

ABSTRACT

***Vibrio* spp. in *Litopenaeus vannamei* haemolymph from three shrimp farm in Ceará State, Brazil.**

The purpose of the present study is to relate coagulation time with *Vibrio* presence in the haemolymph of shrimps reared in three farms located in Ceará State, sampled during the dry season and the rainy season from October 2005 to October 2006. In all, 18 samples were withdrawn, in each of which 10 shrimps were analyzed. The cultivation time of the experiment varied from 60 to 120 days. Clotting ability of shrimp haemolymph collected in the farms and in both periods varied in the range of 5 - 55 seconds, in 51 shrimps infected with *Vibrio* and, for the remaining ones (129) not infected, the intermission time ranged from 4 to 57 seconds. The Standard Plate Count (SPC) of *Vibrio* in haemolymph of the infected individuals varied from 10 to 28.000 Colony Forming Units (CFU/mL). For the farms A, B and C the intervening times of *Vibrio* SPC in haemolymph in the dry period were, respectively 1,000; from 10 to 140, and from 1.000 to 28.000; for the rainy period, they varied from 10 to 2,000, from 110 to 1,000 and from 10 to 1,605 CFU/mL. Out of 132 isolated strains of the shrimp haemolymph which contained *Vibrio*, 13 species were identified. The highest diversity of *Vibrio* was observed in the following decreasing order of the farms, namely B, C and A, and also that haemolymph contamination was mostly favoured by rainfall. No relationship was found between bacterian presence in the haemolymph and coagulation time.

Key words: Haemolymph, coagulation time, *Vibro*, shrimp culture.

¹Mestre em Ciências Marinhas Tropicais

²Bolsista DCR do CNPq

³Professora e pesquisadora do Instituto de Ciências do Mar- Chefe do Programa CEDECAM

⁴Doutoranda de Ciências Marinha Tropical

⁵Professora e pesquisadora do Instituto de Ciências do Mar. Pesquisadora do CNPq.

INTRODUÇÃO

Mesmo possuindo uma área de produção de camarão de cultivo, considerada baixa em relação a outros produtores mundiais, o Brasil possui uma alta produtividade, 4.333 kg/ha/ano, abaixo apenas da Tailândia. Em 2005, o Brasil chegou a produzir 65.000 toneladas de camarão cultivado em 15 mil hectares (BNDDES, 2006).

A espécie de camarão, *Litopenaeus vannamei*, originária do Pacífico introduzida no país na metade dos anos 80, possui excelentes condições zootécnicas, tais como: rápido crescimento, rusticidade e habilidade de converter dietas artificiais em excelentes ganhos de peso. No final do século passado, essa espécie praticamente passou a ser cultivada em 100% das fazendas brasileiras (MARTINS, 2003). No entanto, um dos grandes entraves à carcinicultura são as doenças infecciosas, responsáveis por perdas significativas no cultivo de organismos aquáticos, afetando diretamente o desenvolvimento econômico do setor em vários países (VERSCHUERER et al., 2000).

A maioria das infecções bacterianas em camarões é causada por bactérias do gênero *Vibrio* (JIRAVANICHPAISAL et al., 1993). A ocorrência de bactérias na hemolinfa é um indicador de bacteriose generalizada, embora existam relatos de que camarões saudáveis podem abrigar vírios em sua hemolinfa (GOMEZ-GIL et al., 1998). Segundo Lightner (1977), a hemolinfa deve ser, se não estéril, pelo menos, pouco contaminada.

A partir das informações acima, o presente estudo teve como objetivo: 1. Aplicar o teste de coagulação em hemolinfa do camarão cultivado *Litopenaeus vannamei*, nos estágios juvenil e adulto, em três fazendas no Estado do Ceará. 2. Quantificar, isolar e identificar fenotipicamente as colônias de vírios sacaroses positivas e negativas nas amostras de hemolinfa dos camarões.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas 18 coletas, com frequência mensal, oito no período de estio e dez no período chuvoso, de outubro de 2005 a outubro de 2006. Cinco delas foram realizadas na Fazenda A, localizada no município de Granja, seis na Fazenda B, no município de Acaraú e sete na Fazenda C, localizada no município de Aracati, todas no Estado do Ceará (Figura 1). Em cada coleta, foram analisados 10 exemplares de camarão com tempo de cultivo de 60 a 120 dias, perfazendo um total de cento e oitenta indivíduos. Os camarões foram capturados com ajuda de uma rede e acondicionados em sacos plásticos com água do próprio cultivo para o transporte até o laboratório.

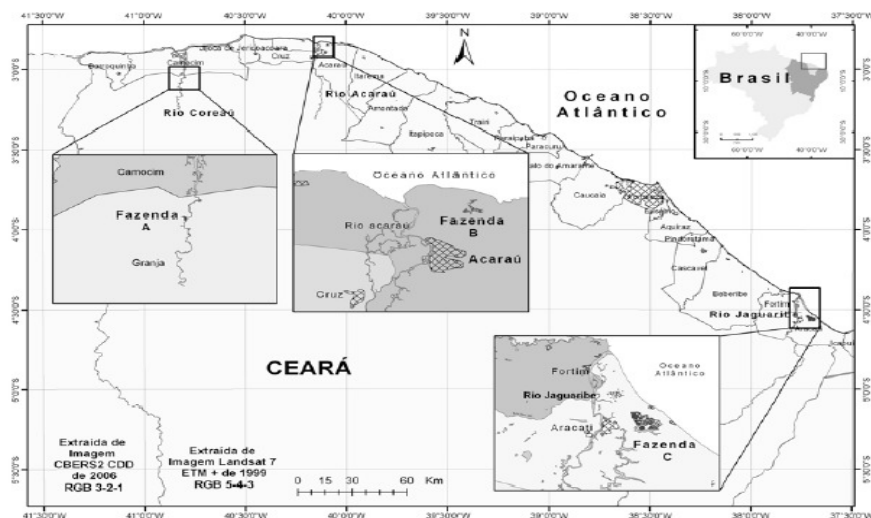


Figura 1. Mapa de localização das fazendas A, B e C (CE) de onde foram coletadas as amostras de

camarão *Litopenaeus vannamei* nos períodos de estio e chuvoso.

Teste de coagulação da hemolinfa

No laboratório, cada exemplar de camarão recebeu um código numérico de 1 a 10. Antes de serem iniciadas as análises, o exoesqueleto dos camarões era desinfetado com álcool a 70%. Uma seringa era então introduzida na parte dorsal do camarão, abaixo do cefalotórax, para perfurar o músculo do camarão. Logo após, cada exemplar era inclinado sobre uma lâmina a fim de se colher o material, aproximadamente duas gotas de hemolinfa. Um esfregaço desse material era feito sobre a lâmina com o auxílio da própria seringa e simultaneamente, era observado o tempo de coagulação. Se este estivesse abaixo de 40 segundos o camarão era considerado sadio. Caso contrário, o camarão poderia estar predisposto a doenças.

Extração da hemolinfa

A extração da hemolinfa foi feita utilizando uma seringa de insulina hipodérmica estéril, que era introduzida na região ventral, entre o final do cefalotórax e o primeiro segmento abdominal do camarão (já desinfetado previamente com álcool 70%) de acordo com a técnica descrita por Pereira e Santos (2003). A seringa continha uma solução de citrato de sódio a 10%, sendo que a proporção usada dessa solução e a do líquido extraído (hemolinfa) foi de 1:1.

Contagem e Isolamento e identificação de *Vibrio* spp.

Da primeira diluição (2x) da solução de hemolinfa 1:1 (citrato de sódio e hemolinfa), foram retirados 0,2 mL e adicionados em 1,8 mL de Água Peptonada a 1% de cloreto de sódio. Das duas diluições (2x e 10⁻²) foram retiradas alíquotas de 0,2 mL e as mesmas, em seguida, foram espalhadas, com o auxílio de bastão de vidro em "L" (alça de Drigalski) esterilizado, na superfície de placas, em duplicata, contendo o meio Agar Tiosulfato-citrato-bile-sacarose (TCBS). As placas foram então incubadas invertidas em estufa, onde permaneceram por 18 horas a 37°C (ELLIOT et al., 2001).

A contagem das colônias foi realizada com um contador de colônias marca PHOENIX mod. EC 550AS. Quando não houve crescimento no intervalo entre 25 – 250 colônias, o resultado foi expresso como UFC / mL / estimada (VIEIRA; TORRES, 2004).

Foram isoladas colônias sacarose negativa e positiva crescidas sobre o meio Ágar TCBS. As colônias puras eram identificadas, conforme detalhamento em Elliot et al. (2001) sendo complementados por testes indicados nas chaves de identificação descritas em Alsina; Blanch (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O intervalo do tempo de coagulação da hemolinfa para os indivíduos de cada fazenda, tanto no período de estio, quanto no chuvoso, apresentou as seguintes variações: para a Fazenda A, 18 a 28' e de oito a 31'; para a Fazenda B, de sete a 25' e de cinco a 55' e finalmente de 16 a 20' e de oito a 41 segundos para a fazenda C (Tabela 1). Freiler et al. (2004) referiram que o tempo de coagulação da hemolinfa é comumente utilizado pelos carcinicultores brasileiros para avaliar o estado de saúde dos camarões, porém, não existe um valor referencial que possa ser adotado com segurança para essa avaliação. Alday-Saenz (1994) cita que a hemolinfa de camarões infectados por bactérias tende a coagular lentamente, cerca de mais de um minuto, em temperaturas que variam de 20 a 30°C, enquanto a hemolinfa de um animal sadio tende a coagular em menos de um minuto. Na literatura há discordância entre os autores com relação a adoção de um valor para o tempo de coagulação da hemolinfa. Alguns citam como aceitável apenas 20 segundos. Porém há outros que relatam que o tempo de coagulação da hemolinfa em camarões de cultivo é tido como aceitável quando for menor ou igual a 40 segundos (PEREIRA; SANTOS, 2003). O tempo de 40 segundos foi o adotado no presente estudo, uma vez que é o mais utilizado pelos carcinicultores do Nordeste.

A Contagem Padrão em Placas (CPP) de *Vibrio* das amostras de hemolinfa dos 180 camarões

coletados nas três fazendas de cultivo, nos dois períodos (estio e chuvoso), variou de 10 a 28.000 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL. Nas três fazendas, 51 (28,3%) dos indivíduos examinados, exibiram vibrios em suas hemolinhas ao longo do ciclo de cultivo (60, 90 e 120 dias) avaliado (Tabela 1). Gopal et al. (2005) relataram CPPs de *Vibrio* em hemolinha oriundas de camarões de fazendas das costas leste e oeste da Índia, maiores que as encontradas na presente pesquisa.

De dezoito coletas realizadas nos dois períodos (estio e chuvoso), seis (33,3%) não apresentaram crescimento de vibrios.

No período de estio, as CPPs de *Vibrio* na hemolinha das amostras, das três fazendas, variaram de 1.000 a 28.000 UFC/mL, sendo que 12 (15%) exemplares, dos 80 estudados nesse intervalo de tempo, eram portadores dessa bactéria em sua hemolinha. Os intervalos da CPP de *Vibrio* na hemolinha dos camarões das fazendas A, B e C, no período seco, foram respectivamente: 1.000; 1.000 a 28.000 e 110 a 1.000 UFC/mL (Tabela 1). É considerada normal uma biomassa bacteriana < que 300 UFC/mL em hemolinha (SANTOS, 2005). No período de estio, todos os exemplares que apresentaram *Vibrio* em suas hemolinhas, tiveram valores maiores que o preconizado pelo autor, com exceção de um exemplar, da segunda coleta da fazenda C, que mostrou uma CPP de *Vibrio* de apenas 110 UFC/mL na hemolinha.

Durante o período de chuva dos 100 camarões examinados, nas três fazendas, 39 apresentaram infecção com a bactéria. Portanto, um percentual maior do que o analisado durante o período seco que foi de 15%. A variação nas CPPs de *Vibrio* na hemolinha dos crustáceos, no período chuvoso, na três fazendas, foi de 10 a 2.000 UFC/mL. Para as fazendas A, B e C os intervalos das CPPs de *Vibrio* foram de 10 a 140; 10 a 2.000 e 10 a 1.605 UFC/mL na hemolinha, respectivamente (Tabela 1). Na legislação do CONAMA (BRASIL, 2005) não há limites para o número de vibrios em água de cultivo de organismos aquáticos. O presente trabalho pesquisou somente *Vibrio* na hemolinha do camarão, porque este parâmetro poderia servir para a avaliação da contaminação do camarão e alertar os carcinicultores de um possível surto de vibriose, caso não fosse adotado um manejo adequado no cultivo. Essa preocupação é compartilhada por Goarant et al. (1999), que também afirmaram que o número elevado de vibrios nos sistemas de cultivo representa risco à atividade, podendo provocar altos índices de mortalidade com perdas econômicas significativas nos países produtores.

Na Fazenda A, de 50 camarões examinados, nos dois períodos de estio e chuvoso, apenas 12 apresentaram vibrios em sua hemolinha, três no período seco (15,0%) e nove no período chuvoso (30,0%). Esta foi a fazenda, dentre as três estudadas, que apresentou o menor percentual de camarões contaminados com vibrios. Em todas as fazendas, o período de chuva concorreu para a contaminação de vibrios. Para a Fazenda B, as CPPs de *Vibrio* nas amostras de hemolinha de camarão oscilaram entre 10 e 28.000 UFC/mL em 60 camarões analisados. Nessa fazenda, no período seco, houve um maior crescimento no número de colônias de *Vibrio* nas amostras, e o número de indivíduos contaminados foi, visivelmente, maior (Tabela 1). O Rio Acaraú, onde se localiza a Fazenda B, possui uma grande concentração de empreendimentos de carcinicultura no Estado do Ceará, cerca de 32, e segundo Brito et al. (2004), é considerado muito poluído. Na Fazenda C a CPP total de *Vibrio* na hemolinha dos camarões apresentou um intervalo de 10 a 1.605 UFC/mL e em ambas as estações 18 exemplares dos crustáceos estavam contaminados. No período seco somente dois indivíduos apresentaram vibrios em sua hemolinha (Tabela 1). Esse dado é semelhante ao encontrado na Fazenda A, quando apenas três indivíduos estavam contaminados com *Vibrio* (Tabela 1). No período chuvoso, 16 indivíduos estavam contaminados por esta bactéria. Araújo et al. (2005) estudando o mesmo estuário onde se localiza a Fazenda C afirmam que o baixo Jaguaribe também é considerado poluído, porque além de sofrer impactos da urbanização, também sofre impactos das fazendas de carcinicultura situadas ao longo de suas margens. Segundo os autores, isso se deve ao fato de que as mesmas não tratam adequadamente seus efluentes no momento das despescas dos viveiros. É importante ressaltar que dentre todas as fazendas e nos dois períodos, a Fazenda B foi a que apresentou maiores contagens de vibrios na hemolinha dos camarões examinados.

Tabela 1- Contagem Padrão em Placas (CPP) de vibrios (UFC) por mililitro de hemolinfa e seu tempo de coagulação (segundo) em camarões *Litopenaeus vannamei* cultivados em três fazendas localizadas no Estado do Ceará, nos períodos de estio e chuvoso.

Cultivo (dias)	Exemplar	Fazenda A			Fazenda B			Fazenda C			
		Estio	UFC/mL	T _{coag(s)}	Estio	UFC/mL	T _{coag(s)}	Estio	UFC/mL	T _{coag(s)}	
60	1	-	*	9	*	22	10	*	9	*	46
	2	-	*	9	*	5	10	1000	16	*	19
	3	-	*	9	*	4	13	*	10	*	5
	4	-	*	10	*	12	15	*	23	1000	12
	5	-	*	7	*	14	48	*	17	*	19
	6	-	*	9	*	17	14	*	18	*	18
	7	-	*	24	*	11	28	*	10	*	14
	8	-	*	12	*	5	14	*	19	*	15
	9	-	*	6	*	8	14	*	13	*	9
	10	-	*	8	22000	8	9	*	24	*	17
90	1	*	18	19	2000	15	16	*	18	30	16
	2	1000	28	7	1000	13	11	*	31	40	10
	3	*	4	28	9000	8	27	110	20	10	23
	4	*	31	18	28000	7	25	*	16	95	19
	5	*	4	38	9000	12	20	*	10	110	13
	6	*	7	13	*	16	19	*	21	105	22
	7	*	6	44	*	17	27	*	12	240	18
	8	*	9	16	5000	25	12	*	14	10	8
	9	*	6	23	*	12	7	*	36	1605	10
	10	*	6	9	*	17	34	*	15	1165	14
120	1	*	31	20	*	57	17	*	27	*	26
	2	1000	21	8	*	17	15	*	12	185	41
	3	*	12	19	*	30	42	*	17	*	28
	4	*	26	30	*	23	5	*	16	15	34
	5	*	26	24	*	29	24	*	15	*	13
	6	1000	18	8	*	20	21	*	23	70	18
	7	*	13	46	*	18	20	*	19	*	57
	8	*	31	21	*	14	53	*	19	?	?
	9	*	39	13	*	21	55	*	27	20	19
	10	*	49	10	*	27	15	*	33	*	11

- sem coleta; * sem crescimento sobre ágar TCBS

Em algumas amostras, por vezes em 100% das coletas, não se constatou crescimento de colônias de vibrios nas placas de agar TCBS. Este fato pôde ser observado na primeira e segunda coleta do período chuvoso, na Fazenda A; na terceira do período seco e na segunda do período chuvoso na Fazenda B e na terceira do período seco, na Fazenda C. Diversos estudos em crustáceos demonstram a habilidade de algum fator da hemolinfa influenciar na inibição do crescimento bacteriano (NOGA et al., 1996). Sung et al. (1996) constataram que células de *V. vulnificus* foram eliminadas da hemolinfa de *Penaeus monodon*, após 12 horas da sua inoculação, desaparecendo completamente em 24 horas. A inibição de bactérias na hemolinfa dos camarões pode ser explicada pela presença de peptídeos antimicrobianos, denominados peneidinas, descobertas na hemolinfa de *P. vannamei* por Destoumieux (1997). Segundo Destoumieux et al. (2000), os peneidinas contribuem para a eliminação de microrganismos, através da fagocitose, atuando como antibióticos endógenos.

O tempo total de coagulação da hemolinfa dos indivíduos analisados nas três fazendas, tanto no período chuvoso, como no seco, variou de cinco a 55 segundos, nos 51 camarões que portavam *Vibrio* (Tabela 1).

O tempo de coagulação da hemolinfa dos 12 camarões que apresentaram *Vibrio*, nas três fazendas, no período seco, variou de sete a 28 segundos. No período chuvoso, essa variação foi de cinco a 55 segundos, quando o número de camarões infectados por *Vibrio* foi de 39 exemplares, representando mais que três vezes o número de camarões contaminados no período de estio. Entretanto, essa comparação, tempo de coagulação da hemolinfa x contaminação por *Vibrio*, não mostrou uma relação direta entre esses fatores, uma vez que nem sempre o indivíduo que apresentou um tempo maior para coagulação da hemolinfa, necessariamente apresentou altas contagens para *Vibrio*. Uma vez instalada a infecção, bactérias do gênero *Vibrio* podem alterar o tempo de coagulação da hemolinfa em camarões (FRELIER et al., 2004).

Nas três fazendas e nos dois ciclos, em 51 indivíduos que portavam vibrio, apenas 10% tiveram o tempo de coagulação da hemolinfa acima de 40 segundos, ou seja, a maioria apresentou um tempo inferior a 40 segundos. De acordo com Pereira; Santos (2003) a maior parte dos exemplares poderia ser considerada aparentemente sadia, já que esses mesmos autores só aconselham a realização da análise microbiológica da hemolinfa, quando a mesma exceder 40 segundos para coagular ou quando estiver turva ou avermelhada. Porém, alguns exemplares com tempo de coagulação considerado baixo, tiveram uma CPP alta, como é o caso do exemplar de número quatro, coletado na Fazenda B, que no período seco expressou a maior CPP da pesquisa e em apenas sete segundos sua hemolinfa coagulou (Tabela 1).

Gómez-Gil et al. (1998) obtiveram de amostras de hemolinfa de pós-larvas do camarão *P. vannamei* uma CPP de *Vibrio* que variou de 1.600 a 3.000 UFC/mL. Os autores verificaram a presença de espécies de vibrios patogênicas em camarões que tiveram seu tempo de coagulação considerado baixo, menor que um minuto.

O intervalo de tempo de coagulação da hemolinfa dos 129 exemplares que não exibiram *Vibrio* nas três fazendas e nos dois períodos foi de quatro a 57 segundos. Curioso é que, embora não exibindo crescimento de *Vibrio* na hemolinfa, dois desses animais apresentaram um intervalo de tempo maior de coagulação do que os camarões que tiveram quantificado esse gênero bacteriano, sugerindo que o crescimento de *Vibrio* não influencia no tempo de coagulação da hemolinfa.

Enfatizando a premissa de que a hemolinfa deve ser se não estéril, pelo menos pouco contaminada (LIGHTNER, 1977), não era o esperado encontrar vibrios nas amostras de hemolinfa que tiveram seu tempo de coagulação baixo. Isso não foi verdadeiro, uma vez que foi encontrado *Vibrio* em hemolinfa de camarões que coagularam em apenas sete segundos (Tabela 1).

Durante o período da presente pesquisa, não foram relatadas mortalidades significantes nessas fazendas. No entanto, segundo dados do Centro de Diagnósticos de Enfermidades de Camarão Marinho (CEDECAM) – LABOMAR - UFC, após análises histopatológicas dos camarões oriundos das mesmas coletas, foram constatadas patogenias de importância para a carcinicultura. As amostras de camarão, das fazendas A, B e C, apresentaram gregarina e necrose no epitélio subcuticular, a partir do 30º dia de cultivo. No decorrer do ciclo de cultivo, foram diagnosticados IMNV (grau 1, 2 e 3), NHP, IHHNV, presença de *fouling* e vibriose no hepatopâncreas e nas brânquias, sendo as amostras da Fazenda B, onde havia mais vibrios, as mais comprometidas. No entanto, nenhum surto, que merecesse registro, aconteceu nas fazendas durante a pesquisa.

Portanto, esses fatores podem estar implicados na alteração do tempo de coagulação das amostras

de hemolinfa que não exibiram vibrio, uma vez que os animais com as citadas patogenias eram oriundos das mesmas fazendas.

A temperatura e o pH, na água dos viveiros amostrados, variaram de 25 a 30°C, e de 7,5 e 8,5, respectivamente. A flutuação nos valores de salinidade foi de 0 a 53‰ (dados cedidos pelas fazendas). Segundo Thompsom (2004), oscilações na salinidade podem influenciar no isolamento de microrganismos.

Das coletas onde as amostras de hemolinfa dos camarões apresentaram crescimento de *Vibrio* foram isoladas 132 cepas. Deste total, 116 (87,8%) foram identificadas até espécie. Dessas, 11 foram identificadas como *Plesiomonas shigelloides*. O restante (105) foram classificadas em espécies do gênero *Vibrio*. Foram identificadas 13 espécies diferentes de *Vibrio* nas hemolinfas dos camarões analisados. A fazenda, cujos animais apresentaram maior diversidade, foi a B, com 10 espécies detectadas, logo em seguida vem a C, com seis e em último a Fazenda A, com apenas cinco espécies diferentes (Tabela 2). Gómez-Gil et al. (1998) pesquisando *Vibrio* em amostras de hemolinfa em populações de camarão juvenil (*Penaeus vannamei*) identificaram um número consideravelmente menor quando comparado com o da presente pesquisa.

Nas três fazendas, o período chuvoso favoreceu à diversidade de espécies (Tabela 2), discordando de Hervio-Heath et al. (2002) que afirmam que, quando análises são realizadas no período dos meses de verão, a diversidade de *Vibrio* é maior.

A espécie que ocorreu com maior freqüência foi *V. mimicus*, tanto na hemolinfa dos camarões coletados no período seco quanto no chuvoso, sendo que as amostras da Fazenda C foram as mais positivas para essa espécie (Tabela 2). A segunda espécie mais encontrada foi *V. alginolyticus*, que de acordo com Liu et al. (2004) é um potente patógeno do camarão *L. vannamei*. Essa espécie pode ser utilizada como probiótico nos cultivos de pós-larvas de camarão para competir com *V. harveyi*, mas nesse caso, elas devem passar por uma rigorosa caracterização genotípica (VANDENBERGHE et al., 1999). *V. harveyi* apresentou o terceiro maior percentual de ocorrência no presente estudo, sendo detectado nas fazendas A e B. Esse microrganismo é usualmente isolado de animais marinhos considerados doentes (SOTO-RODRIGUEZ et al., 2003). *Vibrio parahaemolyticus* foi encontrado nas fazendas B e C, com maior freqüência na B. Essa bactéria tende a atacar com maior intensidade camarões no estágio juvenil e adulto (GOMEZ-GIL et al., 2004). *V. charchariae* é mais um dos vibrios que estão relacionados a surtos de vibrioses e foi encontrado apenas na Fazenda C (Tabela 2).

Dentre as demais bactérias encontradas na presente pesquisa, algumas também estão ligadas a vibrioses, tais como *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. metschnikovii*, *V. mediterranei*, *V. cincinnatiensis* e *V. fluvialis* (COSTA, 2006). Segundo Vieira et al. (2000), esta última bactéria foi encontrada em 50% das amostras de pós-larvas de camarão em uma larvicultura, e nesse período foram registrados casos de mortalidades. Tanto *V. vulnificus* quanto *V. vulnificus* biotipo 2 foram encontrados apenas na Fazenda B. Apesar da detecção de *Vibrio* em algumas coletas e da diversidade em espécies confirmadas nas amostras de hemolinfa, não se pode precisar qual espécie é mais ou menos maléfica ao cultivo de peneídeos, uma vez que a virulência desse gênero bacteriano é muito variável. Se condições desfavoráveis vierem a ser desenvolvidas nos sistemas de cultivo, os camarões se tornarão mais susceptíveis a doenças e ao ataque dos vibrios.

Tabela 2- Espécies de *Vibrio* isoladas das amostras de hemolinfa oriundas dos camarões *Litopenaeus vannamei* cultivados em três fazendas localizadas no Estado do Ceará., nos períodos de estio e chuvoso.

Espécies	Número de isolados						Total
	Fazenda A		Fazenda B		Fazenda C		
	Estio	Chuvoso	Estio	Chuvoso	Estio	Chuvoso	
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1	8	4	5	1	9	28
<i>Vibrio carchariae</i>						7	7
<i>Vibrio cholerae</i>		2					2
<i>Vibrio cincinnatiensis</i>				1			1
<i>Vibrio fluvialis</i>						4	4
<i>Vibrio furnissi</i>				1			1
<i>Vibrio harveyi</i>	1		7	5	1		14
<i>Vibrio mediterranei</i>				1		2	3
<i>Vibrio metschnikovii</i>		1		2			3
<i>Vibrio mimicus</i>			1	8		14	23
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>			1	4		3	8
<i>Vibrio vulnificus</i>				1			1
<i>Vibrio vulnificus</i> B2				1			1

CONCLUSÕES

A presença de *Vibrio* na hemolinfa não teve relação com o seu tempo de coagulação; O período chuvoso favoreceu o aparecimento de mais indivíduos com hemolinfa contaminada com *Vibrio*. As contagens de *Vibrio* na hemolinfa dos camarões oriundos da Fazenda B, no período seco, foram mais altas do que no período chuvoso. No entanto, tanto na B como nas outras fazendas, o percentual de animais contaminados no período chuvoso foi maior do que no período seco; A diversidade apresentada pelos vibrios presentes na hemolinfa dos camarões da Fazenda B foi maior que a da Fazenda C, e esta foi maior que na Fazenda A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDAY-SAENZ, V. **Studies on the pathogenesis of *Vibrio* spp. Infection in *Penaeus monodon* Fabricius**, Ph.D thesis, Univ. of Stirling, Scotland, 1994.
- ALSINA, M.; BLANCH, A.R. A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. **J. Appl. Bact.**, Oxford, v. 76, p. 79-85, 1994.
- ARAÚJO, L. F. P.; GOMES, R. B.; FIGUEIREDO M. C. B.; ROSA, M. F. Qualidade das águas superficiais na área de influência das atividades de irrigação e carcinicultura na bacia do baixo Jaguaribe – Ceará – Brasil, **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 2005.
- BRASIL- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Ministério do Meio Ambiente. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2005.
- BNDES, **Revista do Banco Nacional Desenvolvimento Social**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 26, p. 309-314, dez., 2006.
- BRITO, W. O.; SILVA, E. M.; GIRÃO, M. V. D.; COSTA, R. A.; VIEIRA, G.H.F. **Estudo de Poluição do Rio Acaraú, Trecho Sobral (CE) e identificação de cepas de *Escherichia coli* p.151**, In Anais IX Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental–ENAMA., Curitiba, 2004..
- COSTA, R. A. **Pesquisa de *Vibrio* no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no Estado do Ceará**. 2006. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropical) – Instituto de Ciências do Mar, LABOMAR, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- DESTOUMIEUX, D.; BULET, P.; LOEW, D.; VAN DORSSELAER, A.; RODRIGUEZ, J.; BACHÈRE, E. Penaeidins: A new family of antimicrobial peptides in the shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda). **J. Biol. Chem.**, 272: 28398-28406, 1997.
- DESTOUMIEUX, D.; MUÑOZ, M.; COSSEAU, C.; RODRIGUEZ, J.; BULET, P.; COMPS, M.; BACHÈRE, E. Penaeidins, antimicrobial peptides with chitin-binding activity, are produced and stored in shrimp granulocytes and released after microbial challenge. **J. Cell Sci.**, 113: p.461-469, 2000.
- ELLIOT, E.L. KAYSNER, C. A., JACKSON, L. & TAMPLIN M. L. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. Jan. 2001. In FDA, **Bacteriological Analytical Manual on line**. FDA/Center for Food Safety and Applied Nutrition - CFSAN, 2001. Disponível em: < <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html> >. Acesso em 10 de março de 2005.
- FREILER, P. F.; LOY, J. K.; REDDINGTON, J. Diferenciação no campo e em laboratório do NHP e da Vibriose. **Revista da ABCC**, Recife, Ano 6, n. 3, p. 55-56, set., 2004.
- GOARANT, C.; MERIEN, F.; BERTHE, F.; MERMOUD, I.; PEROLAT, P. Arbitrarily primed PCR to type *Vibrio* spp pathogenic for shrimp. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 65, n. 3, p. 1145-1151, 1999.
- GOMEZ-GIL, B.; TRON-MAYÉN, L.; ROQUE, A.; TURNBULL, J. F.; INGLIS, V.; GUERRA-FLORES, A. L. Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 163, p. 1-9, 1998.
- GOMEZ-GIL, B.; RODRIGUEZ-SOTO, S.; GARCIA-GASCA, A.; ROQUE, A.; VAZQUEZ-JUAREZ, R.; THOMPSON, L. F.; SWINGS, J. Molecular identification of *Vibrio harvey*-related isolates associated with diseased aquatic organisms. **Microbiology**, v.150, p.1769-1777, 2004.
- GOPAL, S.; OTTA, S. K.; KUMAR, S.; KARUNASAGAR, I.; NISHIBUCHI, M.; KARUNASAGAR, I. The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. **Intern. J.**

Food Microbiol., v. 102, p. 151-159, 2005.

HERVIO-HEATH, D.; COLWELL, R. R.; DERRIEN, A.; ROBERT-PILOT, A.; FOURNIER, J. M.; POMMEPUY, M. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. **J. Appl Microbiol.**, v.92, p.1123-1135, 2002.

JIRAVANICHPAISAL, P., MIYAZAKI, T., LIMSUWAN, C., SOMJETLERDCHALERN, A., Comparative histopathology of vibriosis in black tiger prawn, *Penaeus monodon*. In: Asian Fisheries Society Eds., 2nd Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. **Asian Fisheries Society**, p. 14, 1993.

LIGHTNER, D.V. Shrimp diseases. In: Sindermann, C.J. (ed.). **Disease Diagnosis and Control in North American Aquaculture**. Elsevier, Amsterdam, p. 10–77, 1977.

LIU, C.-H.; YEH, S.-T.; CHENG, S.-Y.; CHEN, J.-C. The immune response of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio* infection in relation with the moult cycle. **Fish & Shellfish Immunology**, v.16, p.151-161, 2004.

MARTINS, P. C. C. **Influência das condições ambientais e das técnicas do manejo de produção sobre a ocorrência de enfermidades no cultivo de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, no Estado do Ceará**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos. São Paulo, 2003.

NOGA, E.; ARROLL, T.A.; FAN, A. Specificity and some physico-chemical characteristic of the bacterial activity from blue crab *Callinectes sapidus*. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 6, p.403-412, 1996.

PEREIRA, A. M. L ; SANTOS, M. L. **Relatório do treinamento em patologia de camarões marinhos, realizado no Instituto Tecnológico de Sonora, Obregón – México, Parnaíba, 2003**.

SANTOS, M.L.; CARVALHO, R.; ALENCAR, R.; NETO, A.P.; FONSECA, C.S; PEREGRINO, L.P.; ROCHA, I.; RODRIGUES, J. **ABCC -Associação Brasileira dos Criadores de Camarão Marinho**. Programa de biosegurança na fazenda de camarão marinho. 1ª edição. p.1-63, 2005.

SOTO-RODRIGUES, S.; ROQUE, A.; LIZARRAGA-PARTIDA, M. L.; GUERRA-FLORES, A. L.; GOMEZ-GIL, B. Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. **Dis. Aquat. Organ.** v. 53, p. 231-240, 2003.

SUNG, H.H.; YANG, Y.L.; SONG, Y.L.. Enhancement of microbicidal activity in Tiger shrimp (*Penaeus monodon*) via immunostimulation. **J. Crust. Biol.**, v.16, p.278-28, 1996.

THOMPSON, R. J.; RANDA, M.A.; MARCELINO, L. A.; TOMITA-MITCHELL, A.; LIM, E.; POLZ, M. F. Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.70, n.7, p.4103-4110, 2004.

VANDENBERGHE, J.; VERDONCK, L.; ROBLES-AROZARENA, R.; RIVERA, G.; BOLLAND A.; BALLADARES, M.; GOMES-GIL, B.; CALDERON, J.; SORGELOOS, P.; SWINGS, J. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock, and hatchery probionts. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 65, p. 2592-2597, 1999.

VIEIRA, R. H. S. F.; GESTEIRA, T. C. V.; MARQUES, L. C.; MARTINS, P. C. C.; MONTEIRO, C. M.; CARVALHO, R. L. *Vibrio* spp. e suas implicações sobre larviculturas de camarões marinhos. **Arq. Ciên. Mar.**, v.33, p.107-112, 2000.

VIEIRA, R.H.S.F.; TORRES, R.C.O. Contagem padrão em placas (CPP) de microrganismos aeróbios, viáveis. In : VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, Higiene e qualidade do pescado- Teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004.p. 211-214.

VERSCHUER, L.; ROMBAUT, G. SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v.64, p.655-671, 2000.