



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

**VILANY VIEIRA SOARES DE MENEZES**

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DO CAMARÃO-SOSSEGO, *Macrobrachium jelskii*, AO VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA (WSSV)**

**FORTALEZA**

**2024**

VILANY VIEIRA SOARES DE MENEZES

AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DO CAMARÃO-SOSSEGO, *Macrobrachium jelskii*, AO VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA (WSSV)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Biotecnologia e Genética de Organismos Aquáticos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni  
Coorientador: Dr. Rafael dos Santos Rocha

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M513a Menezes, Vilany Vieira Soares de.  
Avaliação da suscetibilidade do camarão-sossego, *Macrobrachium jelskii*, ao vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) / Vilany Vieira Soares de Menezes. – 2024.  
52 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2024.  
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.  
Coorientação: Prof. Dr. Rafael dos Santos Rocha.

1. Ambiente. 2. Carcinicultura. 3. Espécie nativa. I. Título.

CDD 639.2

---

VILANY VIEIRA SOARES DE MENEZES

AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DO CAMARÃO-SOSSEGO, *Macrobrachium jelskii*, AO VÍRUS DA SÍNDROME DA MANCHA BRANCA (WSSV)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Biotecnologia.

Aprovada em: 05/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Rafael dos Santos Rocha (Coorientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Rubens Galdino Feijó  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

À minha vó Maria Vilani Soares, poetisa,  
agricultora, educadora popular, líder  
sindicalista e comunitária (*in memoriam*)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por tanto amor e incentivo, agradeço demais pela força e tanto esforço para que eu e meu irmão conseguíssemos conquistar tantos sonhos. Ao meu irmão, pelo apoio e pela confiança no meu trabalho (mais do que eu mesma), a inspiração de ser uma boa pessoa vem de vocês. Para Álvaro Luccas, meu amor e amigo, que me apoiou e apoia em todas as minhas ideias, obrigada por ter trabalhado junto comigo na construção de mais um projeto, e pelas companhias em todos os finais de semana e feriados em que eu precisava trabalhar.

Para minha grande amiga Geovanna, pelo incentivo e afeto, por me escutar e vibrar pelas pequenas conquistas que aconteceram ao longo dos anos, um dia espero conseguir retribuir esse carinho. Ao Jhonatas, por todo o auxílio desde antes do mestrado, pela paciência de me ensinar as atividades básicas do laboratório e da área que estava me inserindo, mas principalmente pela contribuição da construção da ideia desse trabalho.

Aos amigos e colegas que acabei conhecendo na pós-graduação, em especial para Cibele, pelas conversas, conselhos e claro pelas nossas corridinhas na Beira Mar e todas as caronas. Agradeço a Juliana Freitas, por me ensinar desde a teoria até a prática tudo o que eu sei de histologia hoje, pela ajuda no desenvolvimento do meu trabalho, e na minha carreira acadêmica.

Obrigada ao meu orientador, professor Rodrigo Maggioni, pelo acolhimento e a confiança em todo o meu projeto, e por se mostrar disponível para ajudar. Agradeço também ao meu coorientador, doutor Rafael dos Santos Rocha, sua presença foi intrínseca para construção da minha vida acadêmica, obrigada pela paciência em tirar minhas dúvidas, pelo conhecimento passado e por me atender até em seu período de descanso, além disso, gostaria de agradecer pelos momentos de conversas e descontração.

Em relação ao grupo do CEDECAM, além dos já citados, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a construção desse trabalho, na histologia gostaria de agradecer principalmente a Gracinha, pelo auxílio em todo o processo das minhas amostras. Ao pessoal que compõe o grupo de bolsistas e estagiários do laboratório, gostaria de demonstrar minha gratidão principalmente para a Karen, a Raquel e ao Endrel, pela ajuda e por todos os momentos de risadas.

Aos professores Alberto Jorge Pinto Nunes e Rubens Galdino Feijó, pela disponibilidade em avaliar e contribuir com o enriquecimento do presente trabalho.

Obrigada a todos que contribuíram por meio de doações para o progresso dessa pesquisa, de maneira mais específica ao grupo de Piscicultura Tanganyika pela disponibilidade

e pela doação dos camarões utilizados nesse estudo, em especial ao Marcos Venturieri e a Keyse Hadra, pela prestatividade e atenção. Ao pessoal da AquarioMania, que doaram ração, pedras porosas e outras miudezas. A contribuição de vocês para esse trabalho foi imprescindível para o acontecimento dele.

Agradeço a Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de estudo e por me permitir vivenciar e contribuir para a ciência no Brasil. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A história é a raiz  
De todo acontecimento  
Por isso é que eu tento  
Escrever a minha história  
Foi pra mim a maior glória  
Depois de bem massacrada  
Mostrar minha caminhada  
Entre paus, pedras, espinhos  
Ultrapassar nos caminhos  
Hoje estou sossegada.”  
(Maria Vilani Soares, 1996)

## RESUMO

Os crustáceos do gênero *Macrobrachium* são comumente encontrados em regiões tropicais e subtropicais. O Brasil conta com 15 espécies nativas desse gênero, sendo algumas espécies cultivadas em cativeiro e exploradas principalmente pela pesca artesanal, destacando-se o *M. amazonicum*, *M. brasiliense* e *M. jelskii*. O *Macrobrachium jelskii* é um camarão de pequeno porte encontrado em quase todos os estados brasileiros, sendo tipicamente de água doce, podendo ser encontrado em águas marginais e lânticas. Por conta disso, principalmente com a crescente criação do *Penaeus vannamei* em águas doce e oligohalinas, esses animais podem ser encontrados em viveiros de cultivo, através da água captada. Estudos anteriores sobre outras espécies do gênero *Macrobrachium* mostraram que alguns organismos são susceptíveis à doença da mancha branca (WSD). Diante desse contexto, o objetivo do presente trabalho foi averiguar se a espécie nativa *Macrobrachium jelskii* manifesta essa patologia viral quando contaminada experimentalmente por inoculação intramuscular. Para o experimento, foram utilizados 150 animais, sendo 75 destinados para o controle e 75 para inoculação intramuscular. O experimento durou 60 dias, sendo 30 de crescimento e aclimatação e 30 de desafio viral. Foram realizadas seis coletas para a análise de carga viral, retirando-se nove organismos de cada tratamento por coleta, nos dias T0, T5, T10, T15, T20 e T30. Já para as análises histológicas foram feitas quatro coletas, nas quais foram analisadas as brânquias, hepatopâncreas e intestino. As coletas foram feitas nos dias T0, T5, T15 e T30. Para as amostras do grupo infectado, só foram apresentados sinais clínicos no segundo dia após a infecção, sendo principalmente letargia e ausência de apetite. Todas as amostras destinadas para histologia não tiveram alterações celulares características da WSD, inclusive as que sofreram desafio viral. Porém, após a análise de PCR em tempo real, foi verificada a presença de carga viral em todas as coletas submetidas ao vírus, com cargas virais entre  $5,67 \times 10^2$  e  $1,41 \times 10^5$ . Concluiu-se que a espécie nativa *M. jelskii* é suscetível ao vírus da mancha branca, sendo que esses organismos apresentaram apenas sinais clínicos de letargia e falta de apetite no dia seguinte do início do desafio viral, tendo o índice de sobrevivência superior a 10%. A enfermidade não se manifestou histopatologicamente, porém a confirmação da carga viral por PCR em tempo real até a última amostragem (T30) evidencia que os camarões *M. jelskii* são capazes de portar o vírus.

**Palavras-chave:** ambiente; carcinicultura; espécie nativa.

## ABSTRACT

Crustaceans of the genus *Macrobrachium* are commonly found in tropical and subtropical regions. Brazil has 15 native species of this genus, with some species cultivated in captivity and exploited mainly by artisanal fishing, notably *M. amazonicum*, *M. brasiliense* and *M. jelskii*. *Macrobrachium jelskii* is a small shrimp found in almost all Brazilian states, typically freshwater and can be found in marginal and lentic waters. Because of this, especially with the increasing breeding of *Penaeus vannamei* in fresh and oligohaline waters, these animals can be found in cultivation nurseries, through captured water. Previous studies on other species in the genus *Macrobrachium* have shown that some organisms are susceptible to white spot disease (WSD). Given this context, the objective of the present work was to determine whether the native species *Macrobrachium jelskii* manifests this viral pathology when experimentally contaminated by intramuscular inoculation. For the experiment, 150 animals were used, 75 for control and 75 for intramuscular inoculation. The experiment lasted 60 days, 30 days of growth and acclimatization and 30 days of viral challenge. Six samples were carried out for viral load analysis, removing nine organisms from each treatment per sample, on days T0, T5, T10, T15, T20 and T30. For histological analyses, four samples were made, in which the gills, hepatopancreas and intestine were analyzed. Samples were made on days T0, T5, T15 and T30. For samples from the infected group, symptoms were only presented on the second day after infection, mainly lethargy and lack of appetite. All samples destined for histology did not have cellular changes characteristic of WSD, including those that underwent viral challenge. However, after real-time PCR analysis, the presence of viral load was verified in all samples submitted to the virus, with viral loads between  $5.67 \times 10^2$  and  $1.41 \times 10^5$ . It was concluded that the native species *M. jelskii* are susceptible to the white spot virus and these organisms only showed symptoms of lethargy and lack of appetite the day after the start of the viral challenge, with a survival rate greater than 10%. The disease did not manifest itself histopathologically, however confirmation of the viral load by real-time PCR until the last sampling (T30) shows that *M. jelskii* shrimp are capable of carrying the virus.

**Keywords:** environment; shrimp farming; native species.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Classificação taxonômica do camarão-sossego *Macrobrachium jelskii* ..... 17
- Figura 2 - Planta baixa do sistema de cultivo dos camarões *Macrobrachium jelskii* ..... 24
- Figura 3 - Vista superior do sistema de cultivo dos camarões *M. jelskii* com enfoque no tanque dos indivíduos ..... 25
- Figura 4 - Detalhamento do sistema de aeração da aeração utilizado no sistema de cultivo dos camarões *M. jelskii* ..... 26
- Figura 5 - Fotomicrografias de cortes histológicos das brânquias de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 20x. Escala: (100  $\mu$ m) ..... 35
- Figura 6 - Fotomicrografias de cortes histológicos do hepatopâncreas de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 40x. Escala: (50  $\mu$ m) ..... 37
- Figura 7 - Fotomicrografias de cortes histológicos do intestino de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 40x. Escala: (50  $\mu$ m) ..... 39
- Figura 8 - Gráfico de amplificação das amostras do tratamento controle e Infectado com WSSV, juntamente com controles positivos em diluições  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  cópias do WSSV, e controle negativo ..... 40
- Figura 9 - Gráfico mostrando a oscilação da carga viral de WSSV em Log10, dentro do tratamento do Infectado WSSV ..... 42

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Parâmetros zootécnicos iniciais dos camarões *M. jelskii*. Valores apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa, segundo Teste-t de Student  $p < 0,05$ ..... 27
- Tabela 2 Parâmetros zootécnicos finais dos camarões *M. jelskii*. Valores apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa, segundo o Teste-t de Student  $p < 0,05$  ..... 31
- Tabela 3 - Informações de quantidade de *pools* positivos para mancha branca e carga viral para os tratamentos Controle e Infectado WSSV em diferentes dias de coleta. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa, segundo a ANOVA (*One-way*)  $p < 0,05$  ..... 41

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>Gênero <i>Macrobrachium</i></b> .....	16
<b>2.2</b>	<b><i>Macrobrachium jelskii</i></b> .....	17
<b>2.3</b>	<b>Principais patologias virais em carcinicultura</b> .....	19
<b>2.3.1</b>	<b><i>Vírus da Doença da mancha branca (WSS)</i></b> .....	19
<b>2.4</b>	<b>Suscetibilidade de espécies nativas de camarão a patologias virais</b> .....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
<b>3.1</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	23
<b>3.2</b>	<b>Desafio viral - WSSV</b> .....	23
<b>3.2.1</b>	<b><i>Obtenção dos camarões nativos</i></b> .....	23
<b>3.2.2</b>	<b><i>Descrição do sistema de cultivo (Bioensaio)</i></b> .....	23
<b>3.2.3</b>	<b><i>Preparo do inóculo viral e extrato SPF</i></b> .....	26
<b>3.2.4</b>	<b><i>Infecção experimental</i></b> .....	27
<b>3.2.5</b>	<b><i>Coleta das amostras</i></b> .....	27
<b>3.2.6</b>	<b><i>Extração e quantificação de DNA</i></b> .....	28
<b>3.2.7</b>	<b><i>Quantificação absoluta de WSSV por qPCR</i></b> .....	28
<b>3.2.8</b>	<b><i>Histopatologia</i></b> .....	29
<b>3.3</b>	<b>Análise estatística</b> .....	30
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura é a atividade que mais tem contribuído para o desenvolvimento da aquicultura mundial nos últimos anos (FAO, 2018). Dentre as principais espécies cultivadas, o camarão peneídeo *Penaeus vannamei* vem se consolidando como a principal, com histórico de sucesso de cultivo na Ásia e América do Sul. No entanto, o desenvolvimento da atividade, mundialmente, tem sido prejudicado por surtos de doenças de origem bacteriana e viral que acometem os camarões cultivados (Feng *et al.*, 2020).

Surtos de origem viral e bacteriana associados a camarões cultivados têm causado perdas significativas na atividade aquícola. A Organização Mundial para a Saúde Animal (*World Organization for Animal Health*, WOAAH) considera que são de notificação obrigatória, dentre outras patologias, as de origem bacteriana, hepatopancreatite necrosante (NHP), necrose hepatopancreática aguda (AHPND), e as de origem viral, síndrome da mancha branca (*White spot syndrome*, WSS), infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHN) e mionecrose infecciosa (IMN) (WOAH, 2023).

Um grande esforço de pesquisa tem sido direcionado para caracterização e avaliação genética dos patógenos e sua relação com o camarão cultivado. No entanto, tem sido cada vez mais considerada a investigação dos mecanismos e vias de inserção do patógeno no ambiente de cultivo. Em estudos de caso, microcrustáceos como *Artemia salina* já se mostraram vetores do vírus da síndrome da mancha branca (Hameed *et al.*, 2002, Li *et al.*, 2003). Outros invertebrados, como caranguejos e siris também já foram considerados potenciais vetores virais em ambiente de carcinicultura (Gunasekaran *et al.*, 2017; Zainathan *et al.*, 2022). O fato é que esses resultados destacam a necessidade de avaliar a biota comumente associada ao ambiente de cultivo que possa ter papel fundamental na disseminação viral.

Os camarões nativos do gênero *Macrobrachium* são comumente encontrados em águas continentais da América do sul. Sua entrada no ambiente de carcinicultura, pode se dar durante a captação da água para o viveiro e posterior assentamento. Essa possibilidade se torna mais pertinente nos dias atuais, pois desde o início dos anos 2000 que estudos sobre a criação de camarões *P. vannamei* em águas salobras e oligohalinas vêm sendo feitos e também sendo adotados por produtores (Bezerra, 2002; Braga Neto, 2007; Pimentel, 2021). Além disso, já se tem trabalhos que mostram que camarões *P. vannamei* criados em ambientes oligohalinos podem ser infectados com vírus da mancha branca (WSSV), da mionecrose infecciosa (IMNV) e infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHN) (Reis, 2008; Soares, 2011; Carvalho & Martins, 2017).

A susceptibilidade dos camarões do gênero *Macrobrachium* ao vírus da doença da mancha branca já foi investigada, concluindo-se que esses animais podem ser vetores virais em ambiente de carcinicultura (Yoganandhan & Hameed, 2007). A presença de vírus, potencialmente fatais, nesses camarões é um fator alarmante, pois sugere diferentes rotas de disseminação viral entre camarão nativo - camarão cultivado, camarão nativo - camarão nativo ou camarão nativo e outra espécie.

Diante do exposto, a hipótese que norteia essa dissertação é a de que os camarões nativos da espécie *Macrobrachium jelskii* são capazes de desenvolver a patologia do vírus da mancha branca quando contaminados experimentalmente. Para isso, foi traçado como objetivo geral avaliar a susceptibilidade do camarão *Macrobrachium jelskii* à infecção com o vírus da doença da mancha branca. Como objetivos específicos, foram delimitados: (a) verificar se os animais apresentam sinais clínicos externos da doença quando contaminados via injeção intramuscular; (b) verificar se a patologia se manifesta histopatologicamente; (c) verificar se os organismos são capazes de manter o vírus de forma assintomática.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Gênero *Macrobrachium*

Os organismos pertencentes à ordem Decapoda são em sua maioria os crustáceos mais conhecidos, tais como, siris, lagostas, caranguejos e camarões. Desses crustáceos há determinados organismos que se encontram no gênero *Macrobrachium*, sendo classificados como camarões de água doce. Contando com mais de 238 espécies, esse gênero está inserido na família *Palaemonidae*, dentre as 37 famílias que estão localizadas na infraordem Caridea (Bowman & Abele, 1982; Pinheiro *et al.*, 1998; De Grave *et al.*, 2013; Vega-Villasante *et al.*, 2014). Os animais desse gênero são comumente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, podendo tolerar faixas de temperatura mínima de 16°C e máxima de 32°C (DE Grave *et al.*, 2009 Bauer, 2011; Vega-Villasante *et al.*, 2014), e são distribuídos por praticamente toda a América do Sul. No Brasil, são encontradas naturalmente cerca de 15 espécies desse gênero, tendo alguns desses animais grande importância econômica e social (Valenti, 1998; De Lima 2013; ICMBio, 2016).

Os crustáceos são bastante valiosos por serem uma fonte de alimento para a população humana, além de algumas espécies também serem estimadas no mercado ornamental. Por conta disso, são um dos cinco organismos aquáticos mais produzidos e capturados do mundo (FAO, 2022). Na produção brasileira, conforme a Pesquisa da Pecuária Municipal - PPM 2022, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE a produção de camarão cultivado alcançou 113,3 mil toneladas no ano de 2022 sendo o Nordeste o principal produtor (IBGE, 2022). Grande parte dessa produção vem da espécie mais cultivada que é o camarão marinho *Penaeus vannamei*.

Não há muitos dados específicos em relação a produção de camarões nativos, porém, sabe-se que esses animais vêm sendo cultivados pela aquicultura e explorados principalmente pela pesca artesanal. Como exemplo de camarões desse gênero mais visados no Brasil pode-se citar o *M. rosenbergii*, introduzido no país de maneira clandestina em 1978 (Mathias, 2005). Das espécies nativas destacam-se *M. amazonicum*, *M. acanthurus*, *M. brasiliense* e *M. jelskii* (Valenti *et al.*, 1993; Melo, 2003; Cirilo *et al.*, 2011). Pelos trabalhos publicados depreende-se uma maior relevância das espécies no Norte e Nordeste do país. O *M. amazonicum*, devido a sua abundância no rio Amazonas, é uma das espécies de camarão mais exploradas comercialmente e consumidas pelos ribeirinhos (Bentes *et al.*, 2011; Sousa *et al.*, 2014; Taddei *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022). Outra fonte de proteína muito presente na culinária nortista e nordestina é o *M. jelskii*, sendo uma das espécies que é comercializada depois da

aplicação do método da secagem ou salga para garantir maior tempo de conservação. Em alguns locais, o camarão que passa por esse método é conhecido como camarão seco ou aviú (Cirilo 2011; Barreto *et al.*, 2016; Das Chagas, 2023; Ferreira, 2023). Para além disso, outro fator significativo a ser citado sobre esses organismos é a sua relevância ambiental. Eles são organismos epibentônicos podendo ser predadores de outros invertebrados e presas para peixes, sendo fundamentais em processos ecológicos (Bauer, 2004; Magalhães, 1999).

## 2.2 *Macrobrachium jelskii*

O *Macrobrachium jelskii* é popularmente conhecido por camarão-sossego na maior parte do território brasileiro (Melo, 2003), porém também pode ser chamado por camarão-fantasma ou ainda como camarão saburica em alguns locais (Figura 1) (Cirilo *et al.*, 2011). Trata-se de um camarão de pequeno porte endêmico da América do Sul. Esses animais podem ser encontrados em quase todos os estados do Brasil, sendo eles Amapá, Pará, Amazonas, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso, São Paulo e Santa Catarina (Melo, 2003).

**Figura 1** – Classificação taxonômica do camarão-sossego *Macrobrachium jelskii*.



Fonte: Soares (2008).

Reino: Animalia  
 Filo: Arthropoda  
 Subfilo: Crustacea  
 Classe: Malacostraca  
 Ordem: Decapoda  
 Subordem: Pleocyemata  
 Ifraordem: Caridea  
 Família: Palaemonidae  
 Gênero: *Macrobrachium*  
 Espécie: *Macrobrachium jelskii*

De acordo com estudos anteriores, esse camarão tipicamente de água doce pode ser detectado em águas escuras com vegetação marginal e substrato lodoso ou ainda em águas claras/transparentes que possuem movimentação rápida com gramíneas e substrato de pedra e areia (Melo, 2003; Soares, 2008). De acordo com Taddei (2006) essa espécie é típica de ambiente de represa, onde ela pode ser encontrada em águas marginais e lânticas estando comumente associado a raízes de plantas aquáticas, sendo importante tanto para a sua nutrição quanto para os estágios de reprodução (Paiva & Barreto, 1960; Soares, 2015).

Esses animais, assim como outros do mesmo gênero, têm o corpo dividido em três seções: cabeça, tórax e abdômen. A cabeça e o tórax juntos são chamados de cefalotórax, onde nele são encontrados a face, os olhos, o maxilar, os flagelos e os cinco pares de pereiópodes. Já o abdômen é dividido por seis segmentos corporais onde se encontram os cinco pares de pleópodes, dois pares de urópodes e o telson. É no cefalotórax que se encontra a principal característica do gênero *Macrobrachium*, que é o segundo par de pereiópodes mais desenvolvidos do que os outros apêndices torácicos, portando quelas igualmente bem desenvolvidas (Holthuis, 1980; Vega-Villasante *et al.*, 2014).

O dito camarão-sosso pode variar de tamanho de 20 até próximo de 60 mm (Silva, 2010; De Lima 2013; Silva, 2014), sendo que a fêmea é maior que o macho, isso é uma característica diferente comparado com outros crustáceos, onde os machos acabam atingindo o maior tamanho (Gherardi & Micheli 1989). Porém, de acordo com os estudos de Shakuntala (1977) e Parker (1992) essa é uma condição que ocorre na maioria dos carídeos que carregam os ovos aderidos aos apêndices abdominais, o que inclui a espécie em questão. Além disso, esse aumento da câmara abdominal das fêmeas maximiza o potencial reprodutivo da espécie, fazendo com que haja maior fecundidade. Em adição, essas fêmeas conseguem poucos, mas grandes ovos o que favorece na sobrevivência das larvas (Soares, 2008).

Em relação à reprodução desses animais, de acordo com Soares (2008) a espécie apresenta um tipo de reprodução contínua-sazonal. O autor em questão mostra que a espécie pode se reproduzir em diferentes épocas do ano. Dependendo do local em que se encontra, o organismo tende a se reproduzir quando há altos índices de precipitação e maior temperatura na água. Há também outros fatores climáticos e abióticos que podem interferir no período reprodutivo. Porém, os citados anteriormente são tidos como os principais, bem como a disponibilidade de alimentos (Thorson, 1950; Sastry, 1983; Takino *et al.*, 1989). Sobre a alimentação desses animais, o que se sabe é que os animais do gênero *Macrobrachium* podem se alimentar na natureza em estágios larvais, principalmente de fitoplâncton e zooplâncton, já em sua fase adulta possuem hábito onívoro e detritívoro podendo se alimentar de insetos, larvas, vegetais, pequenos crustáceos e moluscos, anelídeos, detritos orgânicos, restos de organismos e sementes (Goodyear *et al.*, 1976; Guzmán-Arroyo, 1987). Segundo Williner & Collins (2002) uma típica característica alimentar do *M. jelskii* é o seu hábito alimentar noturno e em áreas de vegetação onde haveria uma maior quantidade de recursos alimentares.

De maneira geral, pode-se dizer que é um animal resistente, com fácil alimentação, dependendo das características abióticas do local pode reproduzir quase o ano inteiro, além de se adaptar em diferentes corpos de água doce. Embora exista poucos estudos sobre a

importância socioeconômica da espécie *M. jelskii*, há muitos trabalhos voltados para a dinâmica populacional da espécie (Soares, 2008, 2015; Silva, 2010; Taddei, 2006; Melo, 2003), bem como alguns estudos sobre a tecnologia pesqueira e processamento desse pescado (Das Chagas, 2023).

### **2.3 Principais patologias virais em carcinicultura**

Existem onze patologias virais em crustáceos com notificação obrigatória pela WOA, entre essas, as seguintes já foram encontradas no Brasil: Necrose hipodérmica e hematopoiética infecciosa (IHHNV - *Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis*), Síndrome da Taura (TS - *Taura syndrome*), Doença da cauda branca (WTD – *White tail disease*), Mionecrose infecciosa (IMN - *Infectious myonecrosis*) e a Doença da mancha branca (WSD – *White spot disease*). Dentre as citadas anteriormente, a doença causada pelo WSSV causou muito impacto na produção de camarão marinho no Brasil.

#### **2.3.1 Doença da Mancha Branca - WSD**

A doença da mancha branca causada pelo vírus da síndrome da mancha branca (WSSV – *White Spot Syndrome Virus*) é uma doença de alta morbidade, sendo fatal para uma grande parcela de crustáceos aquáticos, o que inclui principalmente camarões marinhos e de água doce, lagostins e caranguejos (WOAH, 2023). Além disso, a doença pode se estabelecer em outros organismos, como alguns moluscos (Avelar *et al.*, 2012), os quais não sofrem mortalidade com a doença, porém agindo como vetores para outros organismos. A primeira sinalização da doença ocorreu no leste asiático com os primeiros relatos de trabalho ocorrendo ainda na década de 90 (Wang *et al.*, 1995; Chou *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 1994), sendo os primeiros países atingidos pela doença a China, Tailândia e Japão. Após o seu surgimento, o vírus se espalhou para as restantes regiões do mundo, atingindo países da América Central, América do Sul, Europa, Austrália e Estados Unidos (Soto; Lotz, 2001; Van Hulten *et al.*, 2001; Stentiford & Lightner, 2011; Moody *et al.*, 2022). No Brasil, há relatos de que provavelmente a doença chegou no final de 2004 para o início de 2005 em Santa Catarina (Aphis-USda, 2005; OIE, 2005; Braünig, 2012), em 2008 a doença chega ao nordeste brasileiro, sendo o primeiro Estado atingido o da Bahia. Embora não houvesse registro oficial da doença até o ano de 2011, haviam evidências da doença por conta dos seus quadros clínicos característicos (FERNANDES, 2017).

Esse vírus possui simetria regular, tendo o formato ovoide ou elipsóide a baciliformes tendo o tamanho de 120 – 150 nm de diâmetro e aproximadamente de 270-290 nm de comprimento. Primordialmente o vírus foi posicionado na família *Baculoviridae*, sendo chamado inclusive de hipodérmica e hematopoiética necrose baculovirus (HHNBV - *hypodermal and haematopietic necrosis baculovirus*), porém, depois foi colocado como único membro do gênero *Whispovirus* da família *Nimaviridae* e teve a modificação da nomenclatura (WOAH, 2023).

Dos sinais clínicos dessa doença, o principal que inclusive dá nome à patologia, são as manchas brancas no exoesqueleto variando de tamanhos bem pequenos, porém que podem ser visíveis a olho nu até 3 mm de diâmetro. Embora esse sinal clínico seja uma característica forte da doença, é importante ressaltar que outros fatores também podem causar manchas brancas na carapaça dos crustáceos, como interações bacterianas ou alta alcalinidade (Wang *et al.*, 2002; Bandeira *et al.*, 2018; WOA, 2023). Dentre outros sinais clínicos tem-se a letargia desses organismos, mudança da cor do camarão para rosa ou marrom, se acumularem nas bordas ou na superfície da água e a redução no consumo de alimentos. Apenas a presença das manchas brancas na carapaça não significa um estado terminal da doença, podendo os organismos ficarem vivos por tempo indeterminado, porém, se eles apresentarem outros sinais clínicos como os citados, as chances de ter uma taxa de mortalidade alta entre algumas horas a alguns dias é iminente (Bandeira *et al.*, 2018; WOA, 2023). A manifestação da doença pode ocorrer sobretudo quando se tem alguma situação de estresse, tais como mudanças bruscas nos parâmetros físico-químicos da água, ablação ocular, muda, entre outros. Já de mudanças histológicas que podem ocorrer em crustáceos, quando infectados com a doença, pode-se citar os núcleos hipertrofiados, cromatina marginalizada nas células infectadas, inclusões virais intranucleares coradas de eosinofílica a basofílica pálida em núcleos hipertrofiados e necrose multifocal associada a núcleos picnóticos e cariorréticos em tecidos afetados de origem ectodérmica e mesodérmica (Yang *et al.*, 2001; Tang *et al.*, 2013; WOA, 2023).

É mais acessível a detecção da doença em organismos juvenis, adultos e em pós-larvas tardias. Dos métodos mais adequados, sugeridos pela WOA, para determinar a doença tem-se a PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em tempo real, a nested-PCR e PCR convencional seguida de sequenciamento de *amplicon*. Além desses métodos moleculares, também são indicados outros testes, porém o desempenho é mais limitado, pode-se citar o bioensaio, hibridação *in situ*, LAMP (*Loop-Mediated Isothermal Amplification*), Ab-ELISA (*Antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), Ag-ELISA (*Antigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e análise histológica (WOA, 2023).

Em relação ao impacto financeiro, a mancha branca trouxe muitos prejuízos econômicos, sendo que a nível internacional os primeiros países a serem drasticamente afetados foram a China e o Equador (Costa, 2012). Para se ter um parâmetro, desde a sua chegada na década de 90 até o início dos anos 2000 estima-se um prejuízo entre US\$4 a 6 bilhões na Ásia, e nas Américas prejuízos superiores a US\$2 bilhões (Lightner, 2001; Costa, 2012). Já no Brasil, quando a doença chegou a produção anual de camarões *P. vannamei* era de aproximadamente 76 mil toneladas, com o advento da doença, a produção caiu cerca de 1400 toneladas do ano de 2004 para 2005. Estima-se que desde a sua chegada até o ano de 2007 o prejuízo é estimado em R\$50 milhões (Costa, 2008). A produção de *P. vannamei* no Brasil começou a se recuperar, obtendo valores mais próximos ao ano de 2004, apenas no ano de 2018, onde a produção chegou a cerca de 46 mil toneladas, até o ano de 2020 a produção aumentou aproximadamente 10 mil toneladas por ano (Vidal, 2022).

#### **2.4 Suscetibilidade de espécies nativas de camarão a patologias virais**

A biota natural, composta por comunidades ecológicas de espécies biológicas internamente correlacionadas, é a base das cadeias alimentares nos ecossistemas e importantes itens alimentares naturais para a aquicultura. Em um nível mais amplo, a biota natural no sistema aquático está subjacente à diversificação adaptativa de espécies pertencentes a bactérias, fitoplâncton, perifíton, macrófitas, zooplâncton e zoobentos, incluindo microcrustáceos e demais invertebrados (Billota e Brazier, 2008).

A relação da comunidade naturalmente encontrada em água utilizadas em ambientes de cultivo é motivo de interesse, pois esses organismos podem, em alguns casos, estarem associados a disseminação viral na carcinicultura. Embora haja todo um esforço de engenharia para impedir a entrada de organismos como crustáceos nativos ou moluscos em ambientes de cultivo (a partir da água de captação), essa ação, na sua maioria, se torna bastante onerosa e sem sucesso na maior parte dos casos. Dessa forma, é possível que na entrada desses organismos no ecossistema de cultivo haja uma interação com o organismo cultivado.

Há alguns vírus que já foram evidenciados em estudos anteriores que podem atingir o gênero *Macrobrachium*, sendo alguns tão letais que também foram capazes de causar mortalidades em larga escala. Das principais pode-se citar a WTD – *White tail disease*, chamada de doença da cauda branca, ela é causada por dois vírus o *M. rosenbergii* nodavirus (MrNV), sendo o principal causador etiológico da doença, e o vírus extra pequeno (XSV - *Extra small virus*), sendo considerado um vírus satélite, só podendo se propagar com um vírus auxiliar (Bonami & Widada, 2011; Huang & Ren, 2021). Dos sinais clínicos do WTD tem-se a letargia,

opacidade da musculatura abdominal, degeneração do télson e urópodes, podendo chegar a 100% em 4 dias (Sahul Hameed & Bonami, 2012). Outra virose é a doença da cabeça branca, causada por Vírus iridescente decápode 1 (DIV1 - Decapod iridescent virus 1). Entre os sinais clínicos, pode-se citar um triângulo branco que se forma na carapaça, atrofia hepatopancreática juntamente com o desbotamento da região, além de estômago e intestino vazios (Qiu *et al.*, 2019 Huang & Ren, 2021).

Estudos anteriores, realizados com *M. rosenbergii* e *M. nipponense*, mostraram que esses organismos quando desafiados com a mancha branca se mostraram suscetíveis (Corteel *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2018). No entanto, nenhum trabalho de desafio viral foi encontrado para *M. jelskii*, o que corrobora com a necessidade da presente pesquisa.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Delineamento experimental**

O experimento se baseou na inoculação de camarões nativos *M. jelskii* através da injeção intramuscular, onde foram utilizados inóculos virais de WSSV para o grupo infectado e extrato muscular de camarões ausentes de IHHNV, IMNV e WSSV para o grupo não infectado. O experimento durou ao todo 60 dias corridos, sendo 30 dias para adaptação e o crescimento dos organismos e os outros 30 dias para o desafio viral. Os organismos foram coletados em dias distintos após a inoculação do extrato ausente dos vírus citados e do inóculo viral de WSSV, foram feitas ao todo seis coletas para análise de carga viral, e quatro coletas para análise histopatológica. Depois da etapa experimental ocorreu a análise viral das amostras e a histopatologia dos organismos coletados.

Os ensaios ocorreram nas unidades de Bioensaio e Biologia Molecular do Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM), localizado no Instituto de Ciências do Mar (Labomar), da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza – CE.

#### **3.2 Desafio viral - WSSV**

##### ***3.2.1 Obtenção dos camarões nativos***

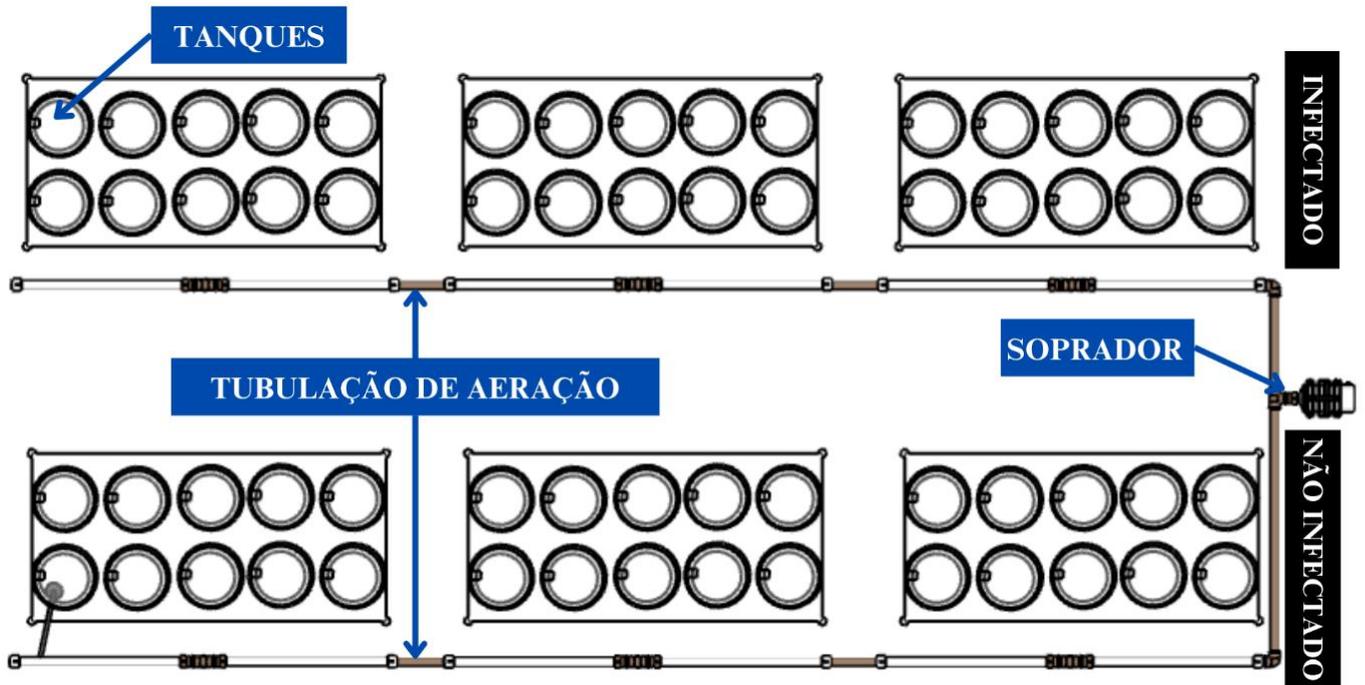
Os camarões *M. jelskii* foram adquiridos da loja de aquarismo Piscicultura Tanganyika, localizada na cidade de Aquiraz – CE, no mês de agosto de 2023. Foram destinados para este experimento 150 camarões da espécie. Assim que chegaram na unidade de bioensaio do CEDECAM esses organismos foram acomodados em três aquários de 60L, que estavam com aeração constante, e com os parâmetros adequados da qualidade de água para a espécie. Logo em seguida esses animais foram transferidos para os tanques individuais onde ocorreu todo o ensaio experimental.

Antes do desafio viral foi aguardado 30 dias, para o crescimento desses organismos e adaptação. Durante os 60 dias de experimento esses animais foram alimentados uma vez ao dia com ração comercial com 32,5% de proteína bruta da linha Tropicais Dia a Dia (Poytara®).

##### ***3.2.2. Descrição do sistema de cultivo (Bioensaio)***

O sistema de cultivo preparado foi organizado de uma forma que reduzisse o risco de contaminação cruzada entre os grupos, para isso o delineamento do experimento foi feito em seis estantes, sendo destinada três para cada grupo (Figura 2).

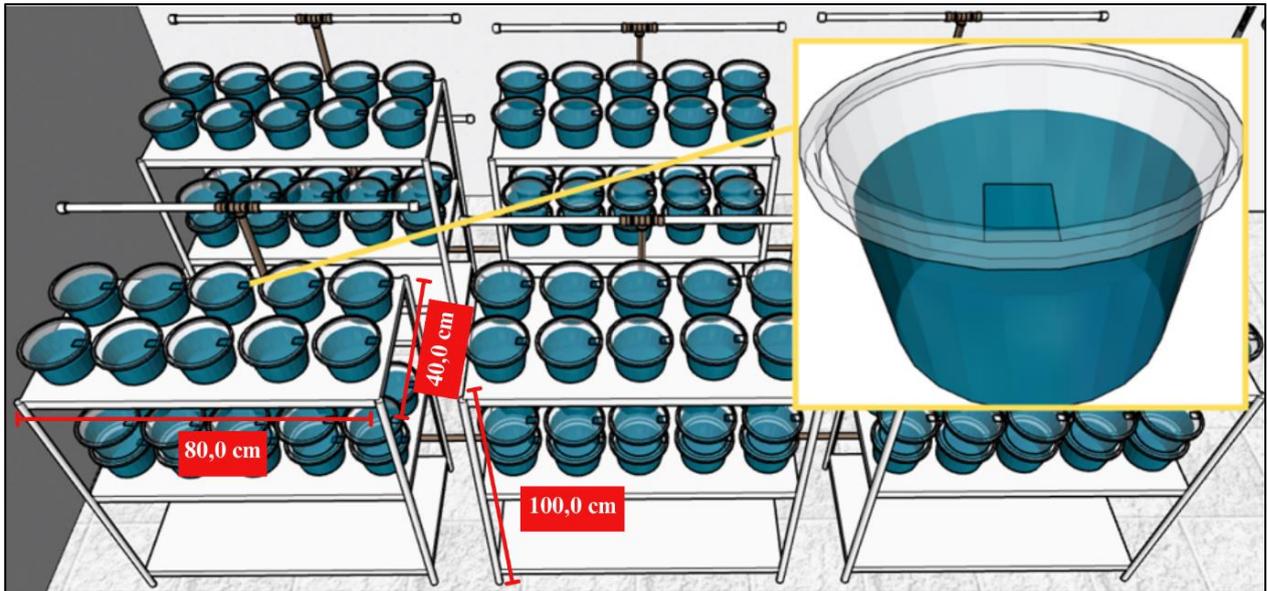
**Figura 2** – Planta baixa do sistema de cultivo dos camarões *Macrobrachium jelskii*.



Fonte: Adaptado de Álvaro Lucas Bezerra dos Santos, 2023

Foram destinados 75 camarões tanto para o grupo não infectado quanto para o infectado com WSSV. Os camarões *M. jelskii* foram colocados individualmente em tanques com capacidade de 1L e com volume útil de 700 mL, cada tanque possuía uma tampa para evitar o escape de camarões. Uma janela com 3 x 3 cm foi instalada na tampa de cada tanque para permitir a alimentação dos camarões e a troca de água (Figura 3). Na parte superior lateral do recipiente foi posicionado uma abertura com aproximadamente 8mm, por onde entrou uma mangueira siliconada de 6mm e em seu final havia um filtro composto por fibra de silicone e pedrisco, no filtro também havia uma pequena abertura responsável pela aeração.

**Figura 3** – Vista superior do sistema de cultivo dos camarões *M. jelskii* com enfoque no tanque dos indivíduos.

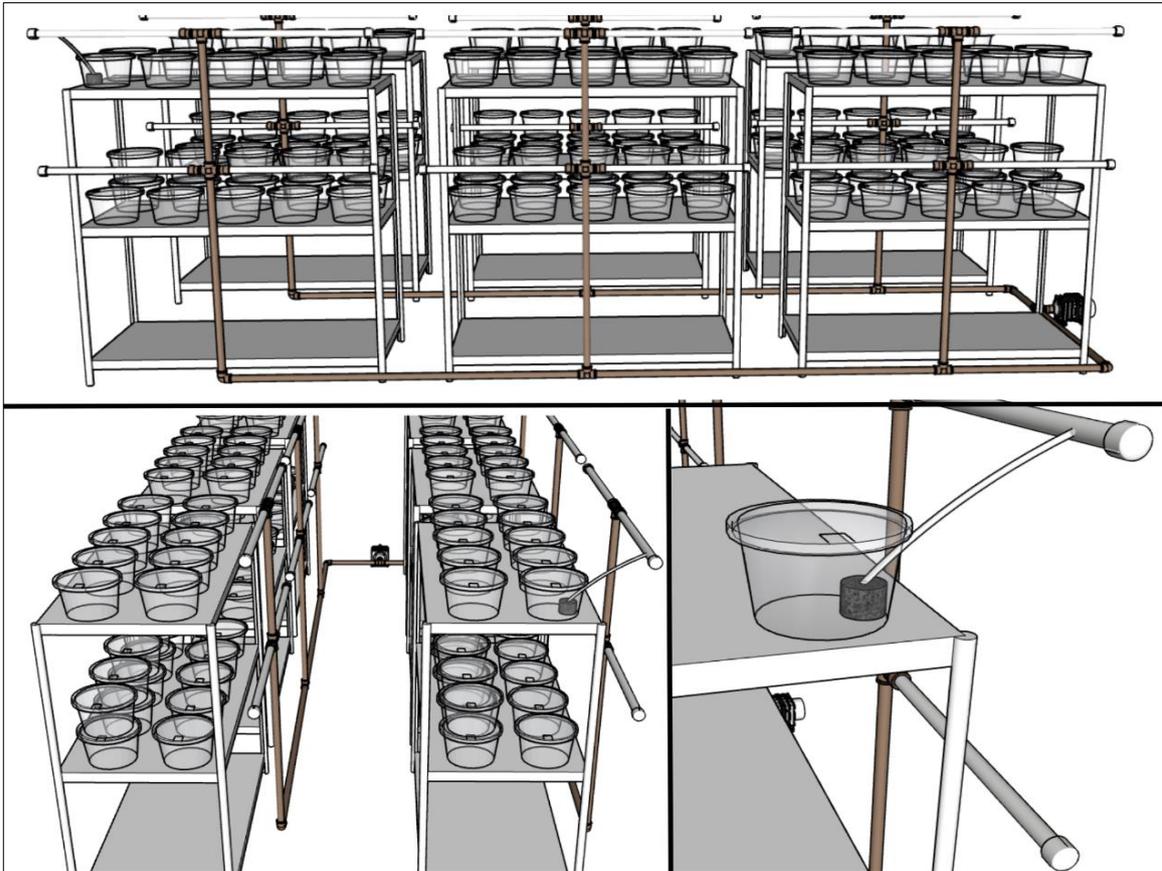


**Fonte:** Adaptado de Álvaro Luccas Bezerra dos Santos, 2023.

A aeração dos tanques foi feita com soprador Sunsun – modelo HG120110 (Figura 4). As trocas de água foram realizadas três vezes na semana, com o descarte de 1/4 do volume total de cada tanque, simultaneamente adicionado água limpa. Os camarões foram mantidos sob luz artificial entre 06h00 e 18h00.

Os camarões foram separados em dois grupos, sendo metade para o grupo dos infectados, onde os animais foram infectados via intramuscular com inóculo contendo WSSV e o grupo dos Não Infectados, onde esses animais foram inoculados com extrato ausente dos vírus WSSV, IMNV e IHHNV.

**Figura 4** – Detalhamento do sistema de aeração utilizado no sistema de cultivo dos camarões *M. jelskii*.



**Fonte:** Adaptado de Álvaro Luccas Bezerra dos Santos, 2023.

### 3.2.3 Preparo do inóculo viral e do extrato SPF

O inóculo viral da síndrome da mancha branca (WSS) foi obtido em um surto viral no estado do Ceará no ano de 2012. O inóculo viral de WSSV foi preparado a partir do músculo infectado de camarões *P. vannamei* sintomáticos (vivos) e confirmados para a presença do WSSV por qPCR. Os músculos foram homogeneizados em solução tampão (NaCl 330 mmol L<sup>-1</sup>, Tris 10 mmol L<sup>-1</sup>, pH 7,4) (1:10 p/v) e posteriormente centrifugadas 13.000 x g por 20 min. Após esse processo foi retirado o sobrenadante e foram filtrados em membrana de 0,45 µm e em seguida em uma de 0,22 µm. Depois das filtrações, as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80°C até a sua utilização. Os inóculos continham 1,5 x 10<sup>4</sup> cópias de WSSV/µg de DNA.

O protocolo para o preparo do extrato utilizado para inocular o grupo dos Não Infectados foi o mesmo, porém, foi utilizado músculo de camarões *P. vannamei* confirmados a ausência dos vírus IHNV, IMNV e WSSV por qPCR.

### 3.2.4 Infecção experimental

No dia do desafio viral (31º dia), antes de realizar o procedimento de inoculação, foi obtido o peso dos camarões com auxílio de uma balança de precisão (semi-analítica) 0,01g – BEL S2202H, e também o tamanho com o auxílio do paquímetro (Tabela 1). Ao final do experimento foi também mensurado o peso e o tamanho dos camarões.

Inicialmente os animais separados para o grupo dos Não infectados apresentaram peso corporal inicial médio de 0,173 g e tamanho médio inicial de 27,4 mm. Já para os camarões destinado para o grupo dos Infectados, as médias do peso corporal inicial (g) e tamanho inicial (mm) foram 0,184 g e 27,2, respectivamente. Não houve diferença entre os grupos.

**Tabela 1** - Parâmetros zootécnicos iniciais dos camarões *M. jelskii*. Valores apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa, segundo Teste-t de Student  $p < 0,05$ .

Parâmetros	Grupos	
	Não Infectado	Infectado WSSV
<b>Peso corporal inicial (g)</b>	0,173±0,108 <sup>a</sup>	0,184±0,095 <sup>a</sup>
<b>Tamanho inicial (mm)</b>	27,4±4,40 <sup>a</sup>	27,2±3,95 <sup>a</sup>

Fonte: A autora, 2023.

Para injetar o inóculo viral de WSSV e o extrato muscular de camarões ausentes de IHNV, IMNV e WSSV, foram utilizadas seringas descartáveis para insulina de 1 mL (13 x 0,45 mm). A agulha da seringa foi inserida intramuscularmente na região dorsal do indivíduo, entre o primeiro e o segundo segmento abdominal (adaptado de Guertler *et al.*, 2013).

Os organismos foram inoculados através de injeção intramuscular no 31º dia do experimento onde foram utilizados 50 µL de inóculo viral de mancha branca para o grupo dos infectados. Já para o grupo dos não infectados, foi utilizado 50 µL de extrato de camarão com ausência de WSSV, IMNV e IHNV.

### 3.2.5 Coleta das amostras

A dinâmica de coletas foi a mesma entre o grupo infectado e não infectado. As coletas destinadas para análise da carga viral foram previamente estabelecidas nos dias: 0, 5, 10, 15, 20 e 30 após o início do desafio viral. Em cada coleta foram retirados e sacrificados nove camarões de cada grupo de maneira aleatória, onde foi utilizado o músculo para extração de DNA e posterior análise da carga viral. Já para a histologia, as coletas foram definidas para os dias 0, 5, 15 e 30, após o início do desafio viral. Em cada coleta foram sacrificados três organismos de cada grupo.

### 3.2.6 Extração e quantificação de DNA

A partir do tecido do camarão *M. jelskii*, o DNA total foi extraído com o reagente DNAzol (Invitrogen®), de acordo com as instruções do fabricante. Aproximadamente 50 mg de tecido, previamente macerado, foi misturado com 500 µL de DNAzol em um microtubo, agitado em vórtex e mantido em repouso por 30 min à temperatura de 25°C. Após esse tempo, os microtubos foram centrifugados a 13.000 µg por 10 min.; o sobrenadante foi recuperado (aproximadamente 500 µL) e inserido, em outro microtubo limpo, contendo 500 µL de álcool etílico 95%, levemente misturado por inversão. Os microtubos, após repouso de 5 min, foram centrifugados a 13.000 g por 5 min; o sobrenadante foi desprezado e ao *pellet* foi sobreposto 500 µL de álcool etílico 70%. Após repouso de 5 min., os microtubos foram centrifugados a 13.000 g por 5 min.; o sobrenadante foi desprezado e os microtubos foram mantidos invertidos para drenagem/evaporação dos resquícios de álcool e secagem do *pellet*. Após secagem, ao *pellet* foram sobrepostos 200 µL de NaOH 8 mM e 20 µL de HEPES 0,1M. A quantificação do DNA foi realizada em aparelho espectrofotométrico NANODROP®. Os microtubos com DNA extraídos foram mantidos à temperatura de -20°C.

### 3.2.7 Quantificação absoluta de WSSV por qPCR

As amostras foram ordenadas em *pools*, onde foram colocados 3 *pools*, contendo 3 camarões em cada um, por coleta para cada tratamento. As reações de qPCR foram realizadas em 10 µL de volume final contendo 5 µL de TaqMan Universal Master Mix (Invitrogen®), 0,3 µL (10 µM) de cada *primer* WSSV1011F (5'- TGG TCC CGT CCT CAT CTC AG -3') e WSSV1079R (5'- GCT GCC TTG CCG GAA ATT A-3'), 0,15 µL (10µM) da sonda de hidrólise (WSSVp1) (5'-6FAM AGC CAT GAA GAA TGC CGT CTA TCA CAC A TAMRA-3'), 1 µL (10-25 ng) de DNA e 3,25 µL de água ultrapura (Invitrogen®). Um controle negativo contendo todos os reagentes, exceto o DNA alvo e uma série de diluições do controle positivo pTOPO-WSSV equivalente a 10<sup>8</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>3</sup> e 10<sup>2</sup> cópias do WSSV foram adicionados a cada placa de qPCR.

Para a quantificação do número de cópias do WSSV foi empregada a plataforma 7500 *Real-time PCR system* (Applied Biosystems®). As condições de ciclagem foram as seguintes: incubação a 50°C por 2 min, seguido da ativação da Platinum®Taq DNA polymerase a 95°C por 2 min, e 40 ciclos de 15 s a 95°C e 30 s a 60°C. Os dados foram coletados durante a etapa de extensão final (60°C). O número de cópias virais de cada amostra foi determinado de acordo com o *software* SDS 1.3.1 (Applied Biosystems®). Todas as amostras foram testadas

em duplicata e somente consideradas positivas quando houver amplificação válida de ambas as réplicas.

### **3.2.8 Histopatologia**

Assim que os camarões foram coletados dos seus respectivos tanques eles foram imediatamente injetados e colocados em um recipiente com solução de Davidson AFA (11,5% de ácido acético glacial, 22% de formalina e 33% de álcool etílico 95%), ao ponto de ficarem submersos. Após as 24h a solução de Davidson foi descartada e em seu lugar foi colocado álcool 70%, até os organismos ficarem imersos, para serem posteriormente analisados (Bell; Lightner, 1988).

No período do processamento, como os organismos apresentavam-se muito pequenos, a clivagem foi apenas para remover os olhos pendunculados, os pleópodos e os pereiópodes, e então foram selecionados dois para serem processados e um de testemunho. Foi adicionado um animal por cassete histológico, e assim ocorreu o processamento dos tecidos. Na primeira parte do processamento, os tecidos foram desidratados com álcool etílico, onde eles foram lavados com álcool 70% até chegar em álcool 100%; depois o próximo passo foi a diafanização que preparou o tecido para a entrada de parafina, nessa etapa foi utilizado o xilol, onde ele substituiu onde tinha álcool e posteriormente os tecidos passaram pelo último estágio de processamento, a infiltração, nesse estágio a parafina preencheu os tecidos. Todas essas etapas foram feitas de maneira automatizada através do Processador Automático de Tecidos Lupetec<sup>®</sup> Modelo PT05 TS (Bell; Lightner, 1988; Caputo, Gitirana, & Manso, 2010).

Depois das etapas anteriores foi feita a inclusão, onde o material processado foi colocado em parafina com o auxílio de um molde, na inclusão foi utilizada as máquinas TEC 2800 Embedding Center contains TEC 2800-M Embedding Dispensing Console, TEC 2800-C Cryo Console e TEC 2800-T Thermal Console. Após essa etapa foi esperado 24h onde então foram feitos os cortes com o micrótomo manual RM2125 RTS com a espessura de 5  $\mu\text{m}$ , os cortes foram colocados em banho maria (Luptec<sup>®</sup> modelo BH-05), pescados com a lâmina e colados. Depois dessas etapas, os tecidos foram corados com hematoxilina-eosina e posteriormente analisados em microscópio óptico (Bell; Lightner, 1988; Caputo, Gitirana, & Manso, 2010). Nesse caso, as lâminas foram analisadas em busca de alterações histopatológicas que o WSSV poderia causar baseado em estudos de Lo *et al.* (1997).

### 3.3 Análise estatística

Para a análise das diferenças de peso corporal dos camarões e tamanho entre o grupo não infectado e o infectado, foi aplicado o Teste-t de Student. Já para as análises da carga viral de WSSV, entre os diferentes dias de coleta e entre os grupos infectados e não infectados, foi utilizada Análise de Variância (*One-way Analysis of Variance*, ANOVA). Os testes estatísticos foram realizados nos *softwares* Microsoft Excel® 2016 e PAST 4 (*PAleontological STatistics*).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais manipulados do grupo não infectado apresentaram peso corporal final (g) e tamanho final (mm) médios de 0,185 g e 27,5 mm, respectivamente. Já os animais do grupo infectado apresentaram 0,199 g e 27,8 mm para peso e tamanho médios, respectivamente (Tabela 2). O peso e o comprimento médios dos indivíduos não apresentaram diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos não infectado e infectado.

**Tabela 2** - Parâmetros zootécnicos finais dos camarões *M. jelskii*. Valores apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa, segundo o Teste-t de Student  $p < 0,05$ .

Parâmetros	Grupos	
	Não Infectado	Infectado WSSV
<b>Peso corporal final (g)</b>	0,185 $\pm$ 0,059 <sup>a</sup>	0,199 $\pm$ 0,067 <sup>a</sup>
<b>Tamanho final (mm)</b>	27,5 $\pm$ 1,55 <sup>a</sup>	27,8 $\pm$ 2,40 <sup>a</sup>
<b>Sobrevivência (%)</b>	92,0 $\pm$ 0,776 <sup>a</sup>	93,3 $\pm$ 0,998 <sup>a</sup>

Fonte: A autora, 2023.

Durante o desafio viral foram registradas ao todo uma mortalidade de 11 indivíduos, dos quais 6 foram para o tratamento controle e 5 para o desafio viral. A maior quantidade ocorreu no dia seguinte após os indivíduos passarem pela inoculação do vírus e do extrato SPF (SPF, do inglês *specific pathogen free*), muito provavelmente o óbito foi devido ao evento estressante. Assim, a sobrevivência dos camarões em ambos os tratamentos se mostrou superior a 90%. Esses resultados diferem de um dos primeiros trabalhos com desafio do vírus da mancha branca em camarões de água doce. Segundo Hameed *et al.* (2000) as espécies *Macrobrachium idella* e *Macrobrachium lamerrae* testadas para mancha branca mediante infecção por inoculação intramuscular, os camarões atingiram mortalidade de 100% em 5 e 8 dias para *M. idella* e *M. lamerrae*, respectivamente. Em trabalho feito por Haq *et al.* (2011), os autores também mostraram alta mortalidade de *Macrobrachium idella* a partir do quarto dia, chegando a 100% no nono dia de experimento. Em estudos feitos por Zhao *et al.* (2017), Yin *et al.* (2017) e Yun *et al.* (2014), foi relatada mortalidade de 100% de *M. nipponense* a partir do terceiro dia, sendo respectivamente as cargas virais utilizadas  $10^{6.2}$  cópias  $g^{-1}$ ,  $2,71 \times 10^5$  virions/ $\mu L$  e  $2,5 \times 10^4$ , 900 e 80 cópias do genoma do WSSV/g de peso corporal.

No mesmo trabalho de Hameed *et al.* (2000), além do Sarathi *et al.* (2008), mostrou ausência de mortalidade para *M. rosenbergii*, porém no trabalho de Kiran *et al.* (2002) foi feito um experimento com infecção de WSSV com diferentes fases de *M. rosenbergii*, nesse estudo

os autores relatam mortalidade de indivíduos dessa espécie, entretanto não há mortalidade em indivíduos adultos, apenas em outros estágios, sendo a porcentagem maior em pós-larvas e juvenis, tendo valores de 28% e 10% respectivamente. Os resultados obtidos no presente trabalho se mostraram diferente dos citados, visto que a mortalidade de camarões *M. jelskii* registrada foi baixa e não está associada ao WSSV, uma vez que não houve diferença significativa entre os grupos tratados, onde a mortalidade de ambos foi inferior a 10%.

Ao longo de todo o experimento, os animais do grupo dos Infectados, só apresentaram sinais clínicos no segundo dia, sendo que os principais comportamentos notados foram letargia e falta de apetite, ao contrário dos camarões do grupo Não Infectado. Os animais inoculados com WSSV apresentaram esses sinais clínicos por apenas dois dias, após esse período não foi observado mais nenhuma manifestação da doença, mantendo a alimentação normal, crescendo e fazendo ecdise. As fêmeas ficaram ovígeras, por volta do 20º dia de experimento.

Sinais clínicos parecidos com os resultados do presente trabalho foram encontrados por Hameed *et al.* (2000), Sarathi *et al.* (2008) e Yoganandhan & Hameed (2007). Todos esses estudos foram realizados utilizando *M. rosenbergii*, onde foi relatado letargia e falta de apetite no segundo dia pós infecção, para os dois primeiros trabalhos e no quarto dia após a infecção, para o último citado. No estudo de Corteel *et al.* (2012), os camarões *M. rosenbergii* só apresentaram esses sinais quando inoculados com cargas virais altas, a carga utilizada para inocular os organismos no presente estudo é considerada alta tanto para peneídeos, quanto para outros indivíduos do gênero *Macrobrachium*, porém, talvez não tenha sido alta o suficiente para desencadear sinais clínicos mais graves na espécie *M. jelskii*. No caso do *M. nipponense*, os camarões começaram a apresentar sinais após dois dias da infecção, os mesmos sinais já relatados pelos autores anteriores. Porém, foi também observada uma coloração avermelhada do músculo e dos apêndices (Zhao *et al.*, 2017). De toda forma, assim como no presente trabalho, não foi relatado por nenhum outro autor, que trabalhou com o gênero *Macrobrachium*, o sinal clínico mais característico da doença, que são as manchas brancas no epitélio subcutilcular.

Outra forma de detectar a doença é por meio da histologia do organismo estudado, podendo apresentar sinais clínicos histológicos por conta da doença. Para camarões peneídeos infectados com mancha branca, as manifestações histológicas são algo usual, podendo ser muito grave (Muegue *et al.*, 2023; Haq *et al.*, 2015; Tang *et al.*, 2013; Lightner, 2011). Já para os organismos do gênero *Macrobrachium* há trabalhos que mostram mudanças a nível histológico quando os organismos são expostos ao vírus WSS, podendo apresentar corpos de inclusão,

corpos de inclusão basofílicos, inclusões intranucleares, hipertrofia nuclear, marginação da cromatina em diferentes tecidos dos camarões estudados (Tong *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2017; Yun *et al.*, 2014; Kiran *et al.*, 2002).

Para esse trabalho foram analisadas histologicamente as brânquias, hepatopâncreas e o intestino. De forma geral, não foi encontrado nenhum sinal clínico histológico das amostras coletadas com característica de infecção pela doença da síndrome da mancha branca. Em trabalhos que mostram a histologia de camarões peneídeos expostos ao vírus da mancha branca, em situações iniciais, os animais apresentam hipertrofia nuclear, dissolução nucleolar e marginação da cromatina, já em situações mais graves os organismos apresentam degeneração celular generalizada, hipertrofia nuclear grave com corpos de inclusão intranucleares e marginação da cromatina (Wang *et al.*, 1995; Yoganandhan *et al.*, 2003).

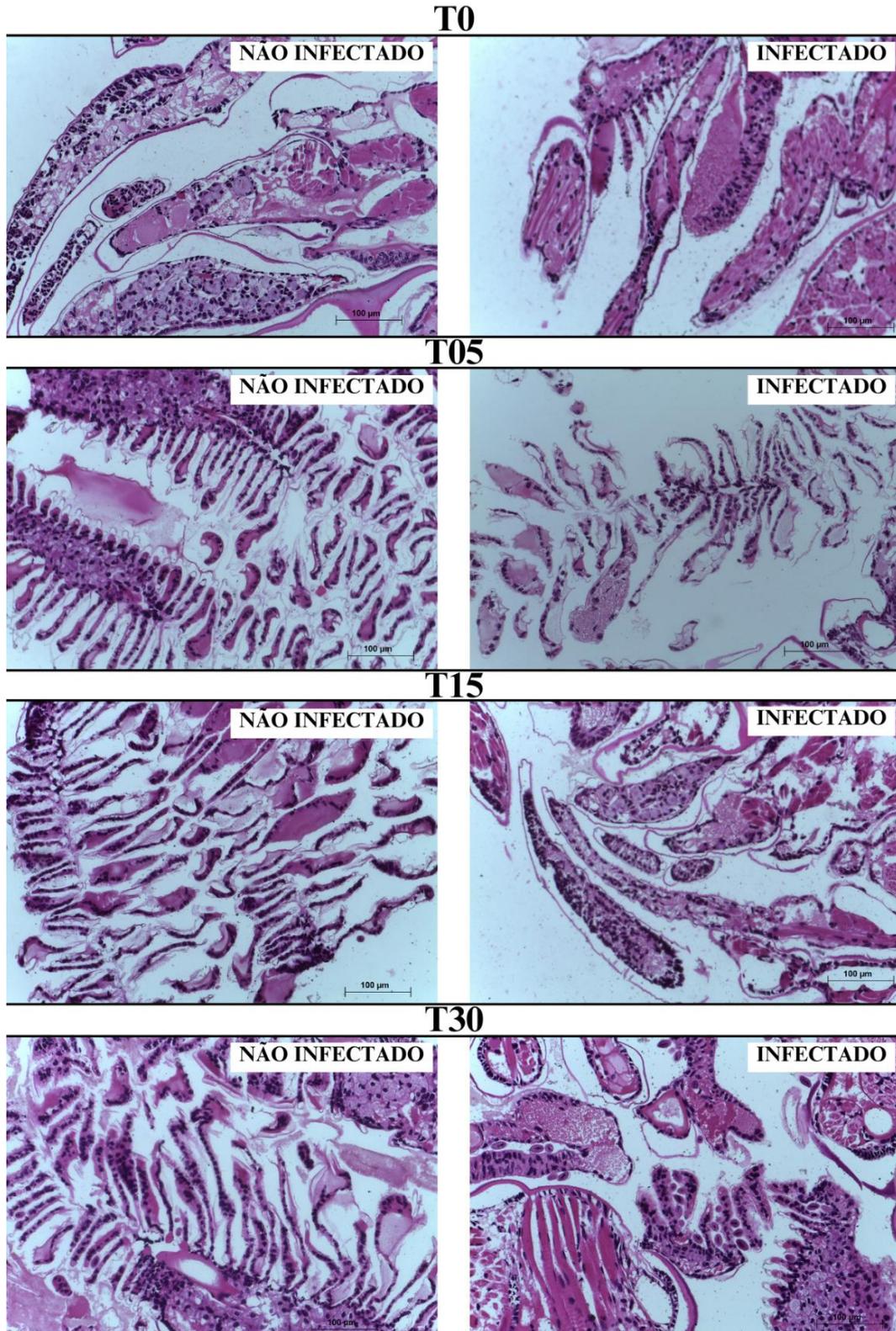
Examinando particularmente as brânquias, embora as imagens sejam díspares, tanto das amostras do tratamento controle quanto do tratamento dos infectados com WSSV, elas não apresentaram nenhuma alteração patológica (Figura 5).

Os trabalhos relacionados com peneídeos, diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, mostram indícios da doença surgindo em pouco tempo após a exposição. Um estudo realizado em um dos primeiros anos após o surgimento da doença de Yoganandhan *et al.* (2003) teve como resultado mudanças histológicas no epitélio branquial após 36h da infecção dos organismos *Penaeus indicus* ao vírus da mancha branca, sendo o sinal clínico citado núcleos hipertrofiados. Em outro trabalho de Pratapa *et al.* (2023) foram encontradas alterações patológicas significativas no epitélio branquial do *P. vannamei*. Para o *P. vannamei* a quantidade de trabalhos é bem maior por conta da sua relevância econômica internacional, e as informações trazidas são sinais de infecção grave nas brânquias, com núcleo hipertrofiado e inclusão viral, tendo as primeiras alterações observadas nesse tecido a partir das 36 h, e aumentando hora após hora, mesmo com diferença de temperatura e salinidade (Rodríguez *et al.*, 2003; Escobedo-Bonilla *et al.*, 2007; Carbajal-Sanchez; Castro-Longoria; Grijalva-Chon, 2008; Wongmaneeprateep *et al.*, 2010). Portanto, para esses animais a WSS é uma doença muito virulenta, como constatado por estudos anteriores, mostrando sinais relevantes ainda na primeira semana de inoculação da doença.

Embora os organismos *M. jelskii* não tenham apresentado nenhum sinal da doença no epitélio branquial isso não é uma regra entre outros organismos do mesmo gênero. De acordo com Zhao *et al.* (2017) em um experimento feito com *M. nipponense*, foi encontrado infiltração hemocítica nos seios hemocélicos, fusão das lamelas e corpos de inclusão basofílico após 48h da infecção, com 72h os corpos basofílicos aumentaram, porém depois de 96h da infecção as

brânquias voltaram a organização normal, mostrando uma diminuição do número de corpos de inclusão basofílicos. Resultados sinal clinicotológicos semelhantes foram encontrados por Yun *et al.* (2014) e por Tong *et al.* (2023) ao trabalharem com a mesma espécie de camarão. Porém, eles não relataram diminuição dessas células após determinado período. Outra espécie que teve um resultado diferente do presente trabalho foi a do Kiran *et al.* (2002) que trabalharam com o *M. rosenbergii* em diferentes estágios. Os autores encontraram manifestações histológicas similares entre os quatro estágios estudados, sendo observado nas lamelas branquiais inclusões intranucleares, hipertrofia nuclear, marginação da cromatina e cariorrexe.

**Figura 5** - Fotomicrografias de cortes histológicos das brânquias de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 20x. Escala: (100 µm).



**Fonte:** A autora, 2023.

Em relação a análise do hepatopâncreas, as amostras de ambos os tratamentos também não apresentaram nenhuma alteração histológica proveniente da infecção com WSSV. Pelas imagens é possível observar o tecido saudável, com o embasamento tubular íntegro (Figura 6).

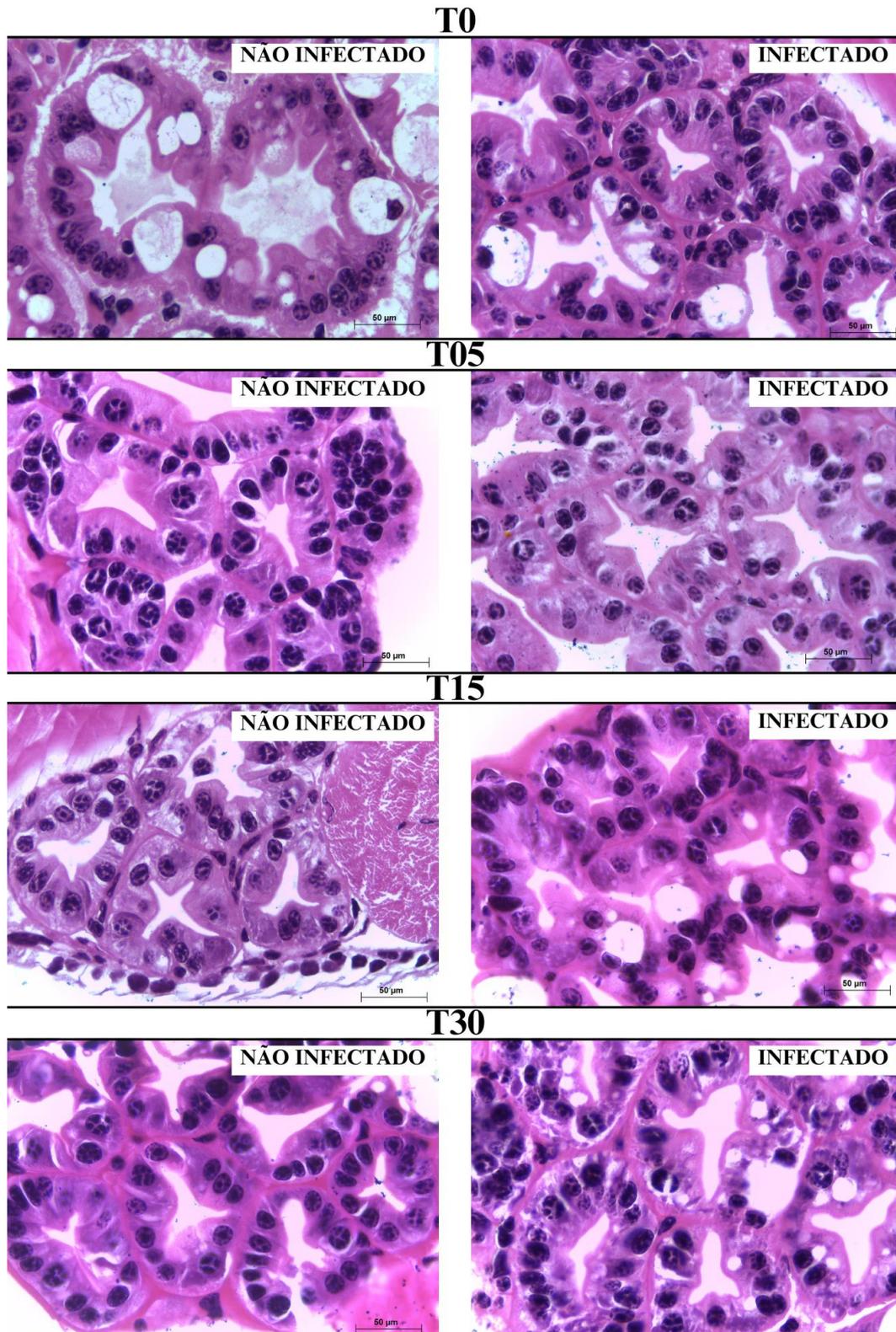
O comportamento desse órgão em camarões peneídeos, difere um pouco das brânquias quando expostas a mancha branca, embora alguns estudos cite que ele também possa ser afetado. Para o *P. indicus*, conforme escrito por Tang *et al.* (2013), o vírus da mancha branca infecta fortemente esse indivíduo. Porém, não foi relatado pelos autores mudanças histológicas no hepatopâncreas. Esse tipo de ocorrência já tinha sido relatado muito tempo antes por Yoganandhan *et al.* (2003), onde a análise por PCR do órgão mostrava a presença do vírus, mas não apresentava corpos de inclusão nas histologias.

Para o *P. monodon*, as reações se mostram um pouco diferentes, visto que logo em um dos primeiros trabalhos com essa espécie de Wang *et al.* (1999) com mancha branca, mostraram que embora não houvesse inclusões virais no órgão, o tecido estava bastante infectado. Isso foi evidenciado por hipertrofia nuclear, marginação da cromatina e inclusões intranucleares. Esses apurados de informações acabam sendo diferentes de resultados mais recentes para o *P. vannamei*, relatada por Muegue *et al.* (2023), segundo os autores, essa espécie apresentou marginação da cromatina, porém, diferentemente do *P. monodon*, esses animais apresentavam corpos de inclusão no hepatopâncreas. Em estudos mais antigos, tais como de Carbajal-Sanchez; Castro-Longoria; Grijalva-Chon, (2008), Yoganandhan *et al.* (2003), Lightner *et al.* (1998), os camarões não apresentaram alterações histopatológicas mesmo quando estavam com infecções graves.

Já para indivíduos do gênero *Macrobrachium* o resultado é bem diferente. Em estudo recente de Tong *et al.* (2023) com *M. nipponense* mostrou o tecido hepatopancreático significativamente danificado, onde não era possível identificar o núcleo da célula por conta da desintegração e vacuolização das células. Em um estudo anterior de ZHAO *et al.* (2017), os autores comentam que mudanças no hepatopâncreas começaram a ocorrer depois de 24h da exposição com cromatina marginalizada e alguns corpos de inclusão basofílico, oscilando na quantidade de corpos de inclusão com o passar dos dias.

Nesse caso, os resultados apresentados coincidem com o Tang *et al.* (2013), porém, é algo curioso por conta do organismo ter reação semelhante a de um camarão de outro gênero do que aos animais que são do mesmo gênero. Os animais do gênero *Macrobrachium* mostravam claramente mudança histológica mais acentuadas do que em alguns peneídeos.

**Figura 6** - Fotomicrografias de cortes histológicos do hepatopâncreas de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 40x. Escala: (50 µm).



**Fonte:** A autora, 2023.

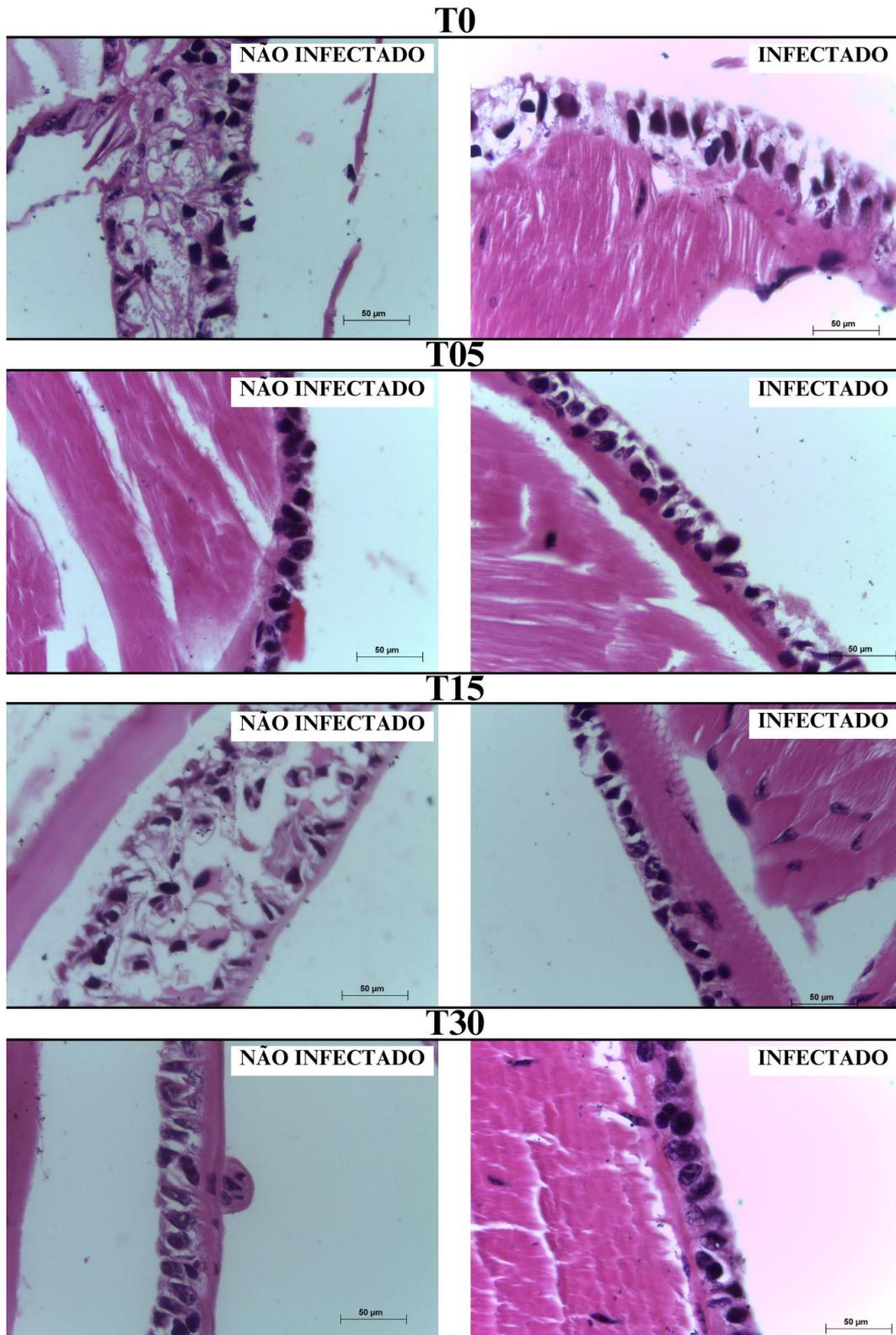
Dentre as partes que são utilizadas para detectar a presença de WSSV, o intestino não é uma parte tão explorada quanto outras, porém, há relatos que o intestino também apresentam sinais clínicos quando os organismos sofrem infecção por mancha branca. Em um estudo com o *P. vannamei*, já foi encontrado núcleos hipertrofiados e inclusões anfófilas após 24h da infecção. Após 36h e 48h pequenas áreas de erosão e necrose apareceram no epitélio do intestino (Escobedo-Bonilla *et al.*, 2007). Já para o camarão *Macrobrachium* há o trabalho de Kiran *et al.* (2002), onde foi relatado que a camada ectodérmica cuticular do intestino mostrou um grande número de tamanhos variados, inclusões nucleares basofílicas, além de hipertrofia nuclear acentuada e marginações da cromatina.

Em relação às amostras utilizadas no presente trabalho, o corte do intestino foi realizado na direção longitudinal, e alguns defeitos presentes nele foram devidos ao atrito do corte, porém, não foi possível encontrar nenhuma anormalidade devido a infecção por mancha branca elucidados em trabalhos anteriores (Figura 7).

Nos casos citados anteriormente por outros autores que trabalharam com pesquisa sobre a síndrome da mancha branca tanto com peneídeos (Carbajal-Sanchez, Castro-Longoria, Grijalva-Chon, 2008; Escobedo-Bonilla *et al.*, 2007; Haq *et al.*, 2015; Lightner, 2011; Muegue *et al.*, 2023; Pratapa *et al.*, 2023; Rodríguez *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2013; Wongmaneeprateep *et al.*, 2010), quanto com organismos do gênero *Macrobrachium* (Corteel *et al.*, 2012; Hameed, *et al.*, 2000; Haq, *et al.*, 2011; Kiran *et al.*, 2002; Sarathi, *et al.*, 2008; Tong *et al.*, 2023; Yin *et al.*, 2017; Yoganandhan & Hameed, 2007; Yun *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2017), em todos eles, os organismos apresentaram sinais clínicos externos e histológicos, bem como mortalidade considerada e resultado positivo quando testados por PCR *nested* ou por PCR em tempo real.

Entretanto, já foi constatado que através da análise por PCR é possível assegurar que o indivíduo pode não apresentar sinais clínicos externos característicos, ou ainda histológicos e apresentar carga viral positiva. Em estudos com organismos endêmicos do Brasil, de Oliveira (2015) e Bandeira (2016), mostraram que alguns crustáceos e moluscos podem ter carga viral e não apresentarem sinais clínicos externos e nem histológicos, nos trabalhos foram feitas análises com moluscos *Melanoides tuberculata* e *Pomacea lineata*, e crustáceos como o caranguejo *Neohelice granulata*, e o camarão *Palaemon pandaliformis*.

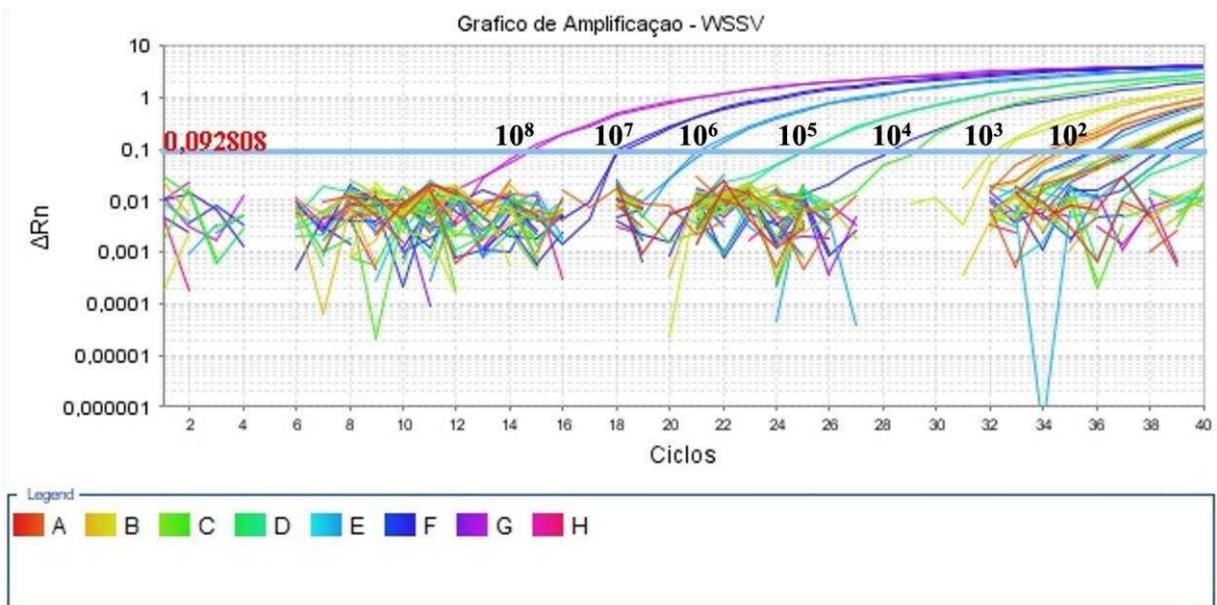
**Figura 7** - Fotomicrografias de cortes histológicos do intestino de *M. jelskii* corados com H&E referentes aos grupos Não Infectado e Infectado. Nas imagens do lado esquerdo são do grupo Não Infectado, enquanto as do lado direito são do grupo Infectado WSSV. Aumento com objetiva: 40x. Escala: (50  $\mu$ m).



**Fonte:** A autora, 2023.

Então assim como ocorreu em outras pesquisas, embora os *M. jelskii* utilizados para o experimento não tenham apresentado sinais clínicos evidentes da mancha branca, os animais amostrados do grupo dos infectados em diferentes dias para a análise de PCR em tempo real mostrou que esses camarões se infectaram com o vírus. Já as amostras coletadas do grupo controle mostraram a ausência de infecção, como o esperado. É possível ver as curvas de amplificação das amostras infectadas nos últimos ciclos (Figura 8).

**Figura 8** – Gráfico de amplificação das amostras do tratamento controle e Infectado com WSSV, juntamente com controles positivos em diluições contendo  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  cópias do WSSV, e controle negativo.



Fonte: A autora, 2023.

As amostras do tratamento infectado variaram na quantidade de *pools* infectados e também na carga viral desses grupos, enquanto os valores dos *pools* do tratamento controle foram inexistente (Tabela 2).

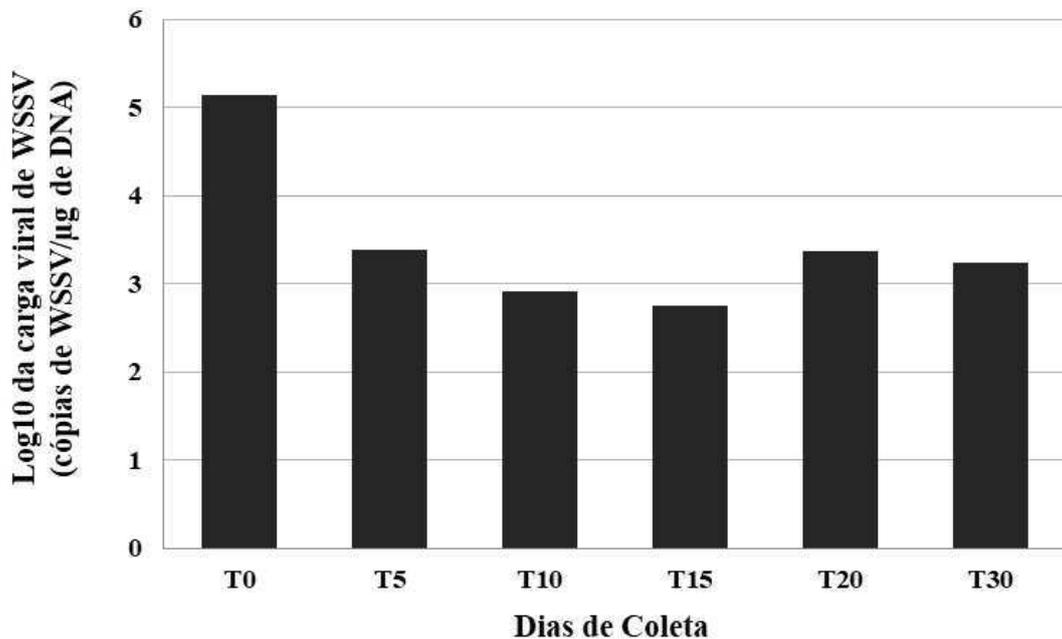
**Tabela 3** – Informações de quantidade de *pools* positivos para mancha branca e carga viral para os tratamentos Controle e Infectado WSSV em diferentes dias de coleta. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa, segundo a ANOVA (*One-way*)  $p < 0,05$ .

Dias de coleta	Controle		Infectado WSSV	
	<i>Pools</i> positivos	Carga Viral Média (cópias de WSSV/ $\mu$ g de DNA)	<i>Pools</i> positivos	Carga Viral Média (cópias de WSSV/ $\mu$ g de DNA)
<b>T0</b>	0	- <sup>a</sup>	3	$1,41 \times 10^5$ <sup>b</sup>
<b>T5</b>	0	- <sup>a</sup>	1	$2,45 \times 10^3$ <sup>b</sup>
<b>T10</b>	0	- <sup>a</sup>	1	$8,32 \times 10^2$ <sup>b</sup>
<b>T15</b>	0	- <sup>a</sup>	2	$5,67 \times 10^2$ <sup>b</sup>
<b>T20</b>	0	- <sup>a</sup>	2	$2,38 \times 10^3$ <sup>b</sup>
<b>T30</b>	0	- <sup>a</sup>	3	$1,72 \times 10^3$ <sup>b</sup>

Fonte: A autora, 2023.

Sobre a variação na quantidade de *pools* positivos para a presença de WSSV, o que também pode ser observado foi a oscilação na média da carga viral durante as diferentes amostragens. Pode-se perceber que a maior média da carga viral foi logo na primeira coleta após a inoculação do vírus, e nas coletas T5, T10 e T15 segue um declínio estabelecido, mas, na coleta T20 há um aumento na carga viral, e na última coleta um pequeno declive. Não foi constatada nenhuma diferença significativa entre as cargas virais, e algo que se pode afirmar é a presença de carga viral de WSSV em todas as coletas (Figura 9).

**Figura 9** – Gráfico mostrando a oscilação da carga viral de WSSV em  $\text{Log}_{10}$ , dentro do tratamento do Infectado WSSV.



Fonte: A autora, 2023.

Em ensaios anteriores que presumiram que camarões silvestres coletados que positivaram para a doença da mancha branca e não apresentaram sinais clínicos crônicos característicos, foi considerado pela autora que os organismos estavam com infecção crônica, ou ainda que não estavam com carga viral suficiente para desencadear a doença, ou até serem submetidos a algum estresse (Bandeira, 2016), o mesmo pode ter ocorrido para a espécie *M. jelskii*. Embora, a carga viral aplicada e analisada no presente trabalho seja considerada alta, onde valores semelhantes com o relatado em outros trabalhos foi o suficiente para levar o animal a óbito ou deixá-lo moribundo, talvez ela não tenha sido alta o suficiente para desencadear sinais clínicos mais severos na espécie estudada, ou os organismos sejam resistentes ao vírus analisado (Oidtmann & Stentiford, 2011; Moser *et al.*, 2012; Jeswin *et al.*, 2015).

O aumento da criação do *P. vannamei* em águas doce e oligohalinas vem sendo relatadas desde os anos 2000 (Bezerra, 2002; Campos & Campos, 2006; Braga Neto, 2007; Fonseca *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2014; Pimentel, 2021), comprovando a viabilidade econômica da produção desses organismos marinhos em água doce e de baixa salinidade, porém, desde o ano de 2006 são apontados alguns problemas da expansão da carcinicultura em águas anteriores que podem contribuir com as disseminação da doença, sendo entre eles a biossegurança da entrada de água e o lançamento de efluentes em corpos hídricos (Figueirêdo *et al.*, 2006;

Tancredo *et al.*, 2011), pois ao fazer o despejo de animais e restos possivelmente contaminados com WSSV diretamente nos corpos d'água pode ocorrer a infecção de organismos selvagens, e caso posteriormente o mesmo corpo de água seja utilizado para abastecimento de alguma carcinicultura, a infecção de camarão nativo para o cultivado também pode ocorrer (Figueirêdo *et al.*, 2006; Bandeira, 2016).

Isso levanta uma importante questão dentro da análise do presente trabalho, pois dispõe que talvez seja possível a transmissão de WSSV de *M. jelskii* - camarão cultivado, *M. jelskii* - *M. jelskii* ou *M. jelskii* e outra espécie. Entretanto, são necessárias mais pesquisas para analisar esses casos, já que o objetivo principal desse trabalho era determinar se o organismo era suscetível a doença da mancha branca.

Sobre essa questão é importante ressaltar que a carga viral utilizada, de acordo com a literatura, foi suficiente para infectar camarões do mesmo gênero *Macrobrachium* e outros peneídeos, porém, como a espécie relatou sintomas iniciais e não houve mortalidade, talvez ou a carga viral utilizada seja baixa para desencadear a doença na espécie, ou os organismos sejam resistentes. Em todo caso, com a PCR em tempo real mostrando a presença de carga viral nos organismos infectados revela-se que o vírus permanece nos organismos, o que pode indicar que essa espécie possa ser um vetor da doença da mancha branca.

## 5 CONCLUSÕES

- A espécie nativa *Macrobrachium jelskii* consegue ser portadora de WSSV sem manifestar sinais clínicos graves da patologia com a carga viral utilizada, o que indica que ou os organismos são resistentes a doença ou a carga viral utilizada foi baixa para espécie.
- Os organismos *Macrobrachium jelskii* não apresentaram mudanças histológicas após serem infectados com WSSV.
- Esses resultados sugerem que os organismos podem ser veículos do vírus caso estejam presentes em ambiente de carcinicultura.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, T. P., SRISUVAN, T., TANG, K. F., LIGHTNER, D. V. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay using TaqMan probe for detection and quantification of infectious myonecrosis virus (IMNV). **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 9-15, 2007.
- APHIS-USDA. Impact worksheet white spot disease in Brazil. Aphis-USda, Natural **Resources Research**, 2005. Disponível em: [http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/taf/iw\\_2005\\_files/foreign/whitespot\\_brazil\\_012705\\_files/WhitespotdiseaseBrazil012105.htm](http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/taf/iw_2005_files/foreign/whitespot_brazil_012705_files/WhitespotdiseaseBrazil012105.htm). Acesso em: 13 jun. 2023
- AUSUBEL, FM, BRENT, R., KINGSTON, RE, MOORE, DD, SEIDMANN, JG E STRUHL, K. (1990) em *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol 2, página A.1.5., John Wiley & Sons, Inc. Nova York, NY.
- AVELAR, D., DE JESUS, M. A. R. I. A., VAZQUEZ BOUCARD, C., MERCIER, L., ESCOBEDO FREGOSO, C., ESCOBEDO BONILLA, C., ... VIBANCO PEREZ, N. CRASSOSTREA GIGAS OYSTERS AS A SHRIMP FARM BIOINDICATOR OF WHITE SPOT SYNDROME VIRUS. 2012.
- BANDEIRA, J. D. T. Vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) em crustáceos e moluscos nativos no Rio Paraíba-PB. 2016.
- BANDEIRA, J., DE MORAIS, R. S. M. M., DA SILVA, S. M. B. C., & DOS SANTOS, F. L. Síndrome da Mancha Branca: Revisão de literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 12, n. 3, p. 202-211, 2018.
- BARRETO, E. S. N. Qualidade microbiológica e físico-química do camarão salgado, seco e defumado em cruz das almas, Recôncavo da Bahia. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 4 (2): 1- 7, 2016.
- BAUER, R. T. Amphidromy and migrations of freshwater shrimps. I. Costs, benefits, evolutionary origins, and an unusual case of amphidromy. In: **New frontiers in crustacean biology**. Brill, 2011. p. 145-156.
- BAUER, R. T. Remarkable Shrimps: adaptations and natural history of the Carideans. Oklahoma, University Oklahoma of Press, Norman. **Marine Resources Library**, p. 282-316, 2004.
- BENTES, B. S., MARTINELLI, J. M., SOUZA, L. S., CAVALCANTE, D. V., ALMEIDA, M. C. D., & ISAAC, V. J. Spatial distribution of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) in two perennial creeks of an estuary on the northern coast of Brazil (Guajará Bay, Belém, Pará). **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 925-935, 2011.
- BEZERRA, F. J. S. Relatório do estágio sobre o cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em água oligohalina. 2002.
- BILOTTA, G. S.; BRAZIER, R. E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. **Water research**, v. 42, n. 12, p. 2849-2861, 2008.

BONAMI, J-R.; WIDADA, J. S. Viral diseases of the giant fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii*: a review. **Journal of invertebrate pathology**, v. 106, n. 1, p. 131-142, 2011.

BOWMAN, T. E.; ABELE, L. G. Classification of the recent Crustacea. **The biology of Crustacea**, v. 1, p. 1-27, 1982.

BRAGA NETO, F. H. F. Avaliação do desenvolvimento do Camarão Branco do Pacífico *Litopenaeus Vannamei* (Boone, 1931) com diferentes dietas na fase de berçário em água Oligohalina. 2007.

BRAÛNIG, P. Clonagem e expressão de um fragmento recombinante da proteína de 28 KDa do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) de camarões. 2012.

CAMPOS, K. C., & CAMPOS, R. T. Alternativa econômica para o novo rural do nordeste brasileiro: o cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em água doce. 2006.

CARBAJAL-SANCHEZ, I. S.; CASTRO-LONGORIA, R.; GRIJALVA-CHON, J. M. Experimental white spot syndrome virus challenge of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone) at different salinities. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 15, p. 1588-1596, 2008.

CARVALHO, R. A. A.; MARTINS, P. C. C. Caracterização da atividade de carcinicultura no vale do rio Açú, Rio Grande do Norte, Brasil. **Holos**, v. 2, p. 96-107, 2017.

CHOU, H., HUANG, C., WANG, C., CHIANG, H., LO, C. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. **Diseases of aquatic organisms**, v. 23, n. 3, p. 165-173, 1995.

CIRILO, A. T. O., SANTOS, M. C., NUNES, M. L. Caracterização física e nutricional do camarão “saburica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877) e de produtos derivados. **Scientia Plena**, v. 7, n. 7, 2011.

CORTEEL, M., DANTAS-LIMA, J. J., VAN TUAN, V., VAN THUONG, K., WILLE, M., ALDAY-SANZ, V., ... & NAUWYNCK, H. J. Susceptibility of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* to different doses of high and low virulence strains of white spot syndrome virus (WSSV). **Diseases of aquatic organisms**, v. 100, n. 3, p. 211-218, 2012.

COSTA, F. S. Avaliação econômica do sistema de policultivo de camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*) com tilápia (*Oreochromis niloticus*) em diferentes densidades de estocagem. 2008.

COSTA, S. W. Prospecção de fatores associados à manifestação e dispersão da enfermidade do vírus da síndrome da mancha branca em Santa Catarina. 2012.

COX, RA (1968) *Methods in Enzymology* (Grossmann, L. e Moldave, E., Eds.) Vol. 12, Parte B, páginas 120-129, Academic Press, Orlando, FL.

DAS CHAGAS, L. A. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE CAMARÕES SECOS EM FEIRA LIVRE DE SÃO LUÍS-MA. **Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza**, v. 15, 2023.

DE GRAVE, S., PENTCHEFF, N. D., AHYONG, S. T., CHAN, T. Y., CRANDALL, K. A., DWORSCHAK, P. C., ... WETZER, R. A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. **Raffles bulletin of zoology**, 2009.

DE GRAVE, S., SMITH, K. G., ADELER, N. A., ALLEN, D. J., ALVAREZ, F., ANKER, A., ... WOWOR, D. Dead shrimp blues: a global assessment of extinction risk in freshwater shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea). **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0120198, 2015.

DE LIMA, D. P., DA SILVA, L. M. A., DE LIRA, A. C. S. Biologia populacional de *Macrobrachium jelskii* (MIERS, 1778) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em uma planície inundável na Amazônia Oriental, Brasil. 2013.

ESCOBEDO-BONILLA, C. M., WILLE, M., SANZ, V. A., SORGELOOS, P., PENSAERT, M. B., & NAUWYNCK, H. J. Pathogenesis of a Thai strain of white spot syndrome virus (WSSV) in juvenile, specific pathogen-free *Litopenaeus vannamei*. **Diseases of aquatic organisms**, v. 74, n. 2, p. 85-94, 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2022: Towards blue transformation**. Roma: FAO, 2022.

FERNANDES, T. L. B. Levantamento dos aspectos tecnológicos, econômicos, sociais, ambientais e legais da carcinicultura marinha, antes e depois da mancha branca–WSSV. 2017.

FIGUEIRÊDO, M. C. B. D., ARAÚJO, L. D. F. P., ROSA, M. D. F., MORAIS, L. D. F. S. D., PAULINO, W. D., & GOMES, R. B. Impactos ambientais da carcinicultura de águas interiores. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, p. 231-240, 2006.

FONSECA, S. B. D., MENDES, P. D. P., ALBERTIM, C. J. D. L., BITTENCOURT, C. F., & SILVA, J. H. V. D. Cultivo do camarão marinho em água doce em diferentes densidades de estocagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1352-1358, 2009.

GHERARDI, F.; MICHELI, F. Relative growth and population structure of the freshwater crab, *Potamon potamios palestinesis*, in the dead sea area (Israel). **Israel Journal of Zoology**, Jerusalem, v. 6, p. 133-145. 1989.

GOODYEAR, R.; MARTÍNEZ, V.; DEL ROSARIO, J. B. Moluscos y crustáceos decápodos del Rio Chiriquí. **Biota de Panamá, Universidad de Panamá**. <http://biota.wordpress.com/2008/04/25/los-peces-del-rio-chiriqui-y-afluentes-principales/>. **Consulta**, v. 1, 1976.

GUNASEKARAN, T., GOPALAKRISHNAN, A., DEIVASIGAMANI, B., SERALATHAN, M. V., & KATHIRKAMAN, P. Spontaneous white spot syndrome virus (WSSV) infection in mud crab (*Scylla serrata* Forskal 1775) fattening pens farm of south east coast of India. **Comparative Clinical Pathology**, v. 27, p. 413-419, 2018.

GUZMÁN-ARROYO, M. Biología, ecología y pesca del langostino *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871), en lagunas costeras del estado de Guerrero, México. **DF, México: Universidad Autónoma de México**, 1987.

HAMEED, A. S., MURTHI, B. L. M., RASHEED, M., SATHISH, S., YOGANANDHAN, K., MURUGAN, V., JAYARAMAN, K.. An investigation of *Artemia* as a possible vector for white

spot syndrome virus (WSSV) transmission to *Penaeus indicus*. **Aquaculture**, v. 204, n. 1-2, p. 1-10, 2002.

HAMEED, AS SAHUL; CHARLES, M. XAVIER; ANILKUMAR, M. Tolerance of *Macrobrachium rosenbergii* to white spot syndrome virus. **Aquaculture**, v. 183, n. 3-4, p. 207-213, 2000.

HAQ, M. A., DURGADEVI, K., BANU, M. N., AHAMAD, A. S., TIWARY, C., & SRINIVASAN, M. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in southern India using PCR, SEM and histological techniques. 2015.

HAQ, M. B., ALI, H. A., NAZAR, A. R., & SHALINI, S. Assessment of *Artemia franciscana* as a probable vector for WSSV transmission to *Macrobrachium idella idella* (Hilgendorf 1898). **International Journal of Chemical and Analytical Science**, v. 2, n. 9, p. 1159-1170, 2011.

HOLTHUIS, L. B. **FAO species catalogue. Volume 1-Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries.** 1980.

HUANG, Y; REN, Q. Innate immune responses against viral pathogens in *Macrobrachium*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 117, p. 103966, 2021.

IBGE (ed.). **Produção da pecuária municipal 2022. Nota Técnica Agropecuária**, Rio de Janeiro, v. 49, p. 11-12, mar. 2023. Anual.

INSTITUTO CHICO MENDES. Avaliação do risco de extinção dos crustáceos no Brasil: 2010-2014. Itajaí (SC): CEPESUL, 2016.

JESWIN, J., ANJU, A., THOMAS, P. C., PAULTON, M. P., & VIJAYAN, K. K. Analysis of viral load between different tissues and rate of progression of white spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus monodon*. **Aquaculture research**, v. 46, n. 8, p. 2003-2012, 2015.

JULIANA FERREIRA. **Conhece o aviú? O camarão menor que uma unha.** 2022. Fatura. Disponível em: <https://www.faturabrasil.com.br/ingredientes/conhece-o-aviu-o-camarao-menor-que-uma-unha/>. Acesso em: 28 jun. 2023.

KIRAN, R. P., RAJENDRAN, K. V., JUNG, S. J., & OH, M. J. Experimental susceptibility of different life-stages of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), to white spot syndrome virus (WSSV). **Journal of fish diseases**, v. 25, n. 4, p. 201-207, 2002.

LI, Q., ZHANG, J., CHEN, Y., YANG, F. White spot syndrome virus (WSSV) infectivity for *Artemia* at different developmental stages. **Diseases of aquatic organisms**, v. 57, n. 3, p. 261-264, 2003.

LIGHTNER, D. V. The penaeid shrimp viruses TSV, IHNV, WSSV, and YHV: current status in the Americas, available diagnostic methods, and management strategies. **Nutrition and Fish Health. Food Products Press. USA**, p. 79-102, 2001.

LIGHTNER, D. V. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): a review. **Journal of invertebrate pathology**, v. 106, n. 1, p. 110-130, 2011.

- LIGHTNER, D. V., PANTOJA, C. R., POULOS, B. T., TANG, K. F. J., REDMAN, R. M., ANDRADE, T. P. D., & BONAMI, J. R. Infectious myonecrosis: new disease in Pacific white shrimp. **Glob Aquac Advocate**, v. 7, p. 85, 2004.
- LIGHTNER, D. V., REDMAN, R. M., PANTOJA, C. R., TANG, K. F. J., NOBLE, B. L., SCHOFIELD, P., ... NAVARRO, S. A. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of invertebrate pathology**, v. 110, n. 2, p. 174-183, 2012.
- LO, C. F., HO, C. H., CHEN, C. H., LIU, K. F., CHIU, Y. L., YEH, P. Y., ... & KOU, G. H. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. **Diseases of Aquatic organisms**, v. 30, n. 1, p. 53-72, 1997.
- MAGALHÃES, C. Biodiversidade do Estado de São Paulo. São Paulo, FAPESP, 1999. 279 p.
- MATHIAS, MARCO A. DE C. Macrobrachium rosenbergii: um “gigante” ainda adormecido. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 90, p. 60-61, 10 ago. 2005.
- MELO, G. A. S. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo: Ed. Loyola, 429 p, 2003.
- MOODY, N. J., MOHR, P. G., WILLIAMS, L. M., CUMMINS, D. M., HOAD, J., SLATER, J., ... & CRANE, M. S. J. Performance characteristics of two real-time TaqMan polymerase chain reaction assays for the detection of WSSV in clinically diseased and apparently healthy prawns. **Diseases of aquatic organisms**, v. 150, p. 169-182, 2022.
- MOSER, J. R., ÁLVAREZ, D. A. G., CANO, F. M., GARCIA, T. E., MOLINA, D. E. C., CLARK, G. P., ... & LÓPEZ, J. H. Water temperature influences viral load and detection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* and wild crustaceans. **Aquaculture**, v. 326, p. 9-14, 2012.
- MUEGUE, M. F. S., PADILLA, P. I. P., BERMEO-CAPUNONG, M. R. A. C., CAIPANG, C. M. A., GESTUVEO, R. J., AMAR, M. J. A., & GEDUSPAN, J. S. Histological Changes in the Hepatopancreas and Stomach of *Litopenaeus vannamei* Experimentally Induced with White Spot Syndrome Virus Infection. **UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY**, v. 44, n. 16, p. 63-72, 2023.
- NAIM, S., TANG, K. F. J., YANG, M., LIGHTNER, D. V., NIBERT, M. L. Extended genome sequences of penaeid shrimp infectious myonecrosis virus strains from Brazil and Indonesia. **Archives of Virology**, v. 160, p. 1579-1583, 2015.
- NUNES, A. J. P.; MARTINS, P. C. C.; GESTEIRA, T. C. V. Produtores sofrem com as mortalidades decorrentes do vírus da mionecrose infecciosa (IMNV). **Panorama da Aquicultura**, v. 5, p. 37-51, 2004.
- OIDTMANN, B., & STENTIFORD, G. D. White spot syndrome virus (WSSV) concentrations in crustacean tissues—a review of data relevant to assess the risk associated with commodity trade. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 58, n. 6, p. 469-482, 2011.
- OIE (Office International des Epizooties/World Animal Health Organization), 2005. White spot in Brazil. Follow up report no.1. *Infectious of Diseases* 18, 248–249.

OLIVEIRA, L. F. S. D. Análise comparativa de marcadores moleculares do genoma do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) em diferentes espécies de crustáceos. 2015.

PAIVA, M. P.; BARRETO, V. A. Notas sobre a biologia do camarão “sossego” *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948; numa pequena bacia potamográfica do nordeste brasileiro. *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 2, p. 121-129. 1960.

PARKER, G. A. The evolution of sexual dimorphism in fish. *Journal of Fish Biology*, London, v. 41, n. b, p. 1-20. 1992.

PIMENTEL, O. A. L. F. Efeito do ajuste iônico em água oligohalina sobre o desempenho zootécnico do *Litopenaeus vannamei* e razões estequiométricas (C: N: P) do séston na fase de berçário. 2021.

PINHEIRO, M. A. A.; HEBLING, N. J. Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). **Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões. Brasília: IBAMA**, p. 21-46, 1998.

POULOS, B., TANG, K., PANTOJA, C., BONAMI, J. R., LIGHTNER, D. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. **JOURNAL-OF-GENERAL-VIROLOGY**, v. 87, p. 987-996, 2006.

PRATAPA, M. G., KUMAR, S., BEDEKAR, M. K., KUMAR, H. S., & RAJENDRAN, K. V. Experimental infection reveals mud crab, *Scylla serrata* is less susceptible than *Scylla olivacea* and shrimp, *Penaeus vannamei* to white spot syndrome virus (WSSV). **Aquaculture**, v. 577, p. 739877, 2023.

QIU, L.; CHEN, X.; ZHAO, R.-H.; LI, C.; GAO, W.; ZHANG, Q.-L.; HUANG, J. Description of a natural infection with decapod iridescent virus 1 in farmed giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Viruses**, v. 11, n. 4, p. 354, 2019.

REIS, L. G. **Efeito da salinidade, densidade de estocagem e da infecção hipodérmica e necrose hematopoiética (IHN) na imunidade do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivados em fazendas do Rio Grande do Norte.** 2008. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

RODRÍGUEZ, J., BAYOT, B., AMANO, Y., PANCHANA, F., DE BLAS, I., ALDAY, V., & CALDERÓN, J. White spot syndrome virus infection in cultured *Penaeus vannamei* (Boone) in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. **Journal of Fish Diseases**, v. 26, n. 8, p. 439-450, 2003.

SAHUL HAMEED, A. S.; BONAMI, J-R. White tail disease of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Indian Journal of Virology**, v. 23, p. 134-140, 2012.

SARATHI, M., BASHA, A. N., RAVI, M., VENKATESAN, C., KUMAR, B. S., & HAMEED, A. S. Clearance of white spot syndrome virus (WSSV) and immunological changes in experimentally WSSV-injected *Macrobrachium rosenbergii*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 25, n. 3, p. 222-230, 2008.

SASTRY, A. N. Ecological aspects of reproduction. In: VERNBERG, F. J.; VERNBERG, W. B. **The Biology of Crustacea: Environmental Adaptations**, 8. ed. New York: Academic Press Inc. 1983. p. 179-255.

SENAPIN, S., PHEWSAIYA, K., BRIGGS, M., & FLEGEL, T. W. Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. **Aquaculture**, v. 266, n. 1-4, p. 32-38, 2007.

SHAKUNTALA, K. The relation between body size and number of egg in the freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei* (H. Milne Edwards) (Decapoda, Caridea). **Crustaceana**, Leiden, v. 33, n. 1, p. 14-17. 1977.

SILVA, A. A. S. **CRESCIMENTO RELATIVO DO CAMARÃO *Macrobrachium jelskii* (MIERS, 1877) (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE) NA BACIA DO RIO GUARIBAS, SEMI-ÁRIDO PIAUIENSE**. 2014. 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, Picos, 2014.

SILVA, A. D. R., PETRÔNIO, B. W. C., OLIVEIRA, J. R., FERREIRA, D. A., SILVA, A. D. R., CASTRO, M. F. Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em água doce no IFPE Campus Vitória de Santo Antão-Relato de caso. **Revista da Associação Brasileira dos Criadores de Camarão - ABCC**. Ano XVI Nº2. 44 - 46., 2014.

SILVA, J C. **Biologia e ecologia dos camarões de água doce *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1778) (Crustacea: Caridea: Palaemonoidea) no Rio Grande**, região de Planura. MG. 2010.

SILVA, N. C., JÚNIOR, É. D. C. F., PEREIRA, A. D. N. S. Impactos Socioambientais Relacionados com a Pesca do Camarão-da-Amazônia *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) na Visão de Pescadores do Rio São José no Município de Abaetetuba/PA. **Biodiversidade Brasileira**, v. 12, n. 2, 2022.

SIVAKAMAVALLI, J.; VASEEHARAN, B.. Variations in biochemical and histological characteristics of WSSV infected green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus*. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 34, n. 5, p. 386-395, 2014.

SOARES, D. G. Análise da transcrição de genes no camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) exposto a estressores ambientais. 2011.

SOARES, M. R. S. Biologia populacional de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) na represa de Três Marias e no rio São Francisco, MG, Brasil. 2008.

SOARES, M. R. S.; OSHIRO, L. M.Y; TOLEDO, J. C. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 105, p. 307-315, 2015.

SOTO, M. A.; LOTZ, J. M. Epidemiological parameters of white spot syndrome virus infections in *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.78, p.9-15, 2001.

SOUSA, R. G. C., FLORENTINO, A. C., & PIÑEYRO, J. I. G. Inovação de artefatos e caracterização da pesca do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) na

comunidade São Sebastião da Brasília-Parintins/AM. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 4, n. 3, p. 83-87, 2014.

STENTIFORD, G. D.; LIGHTNER, D. V. Cases of white spot disease (WSD) in European shrimp farms. **Aquaculture**, v. 319, n. 1-2, p. 302-306, 2011.

TADDEI, F. G. **Biologia populacional, reprodutiva e crescimento dos camarões pelemonídeos *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) e *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1868) (Crustácea: Caridea) na região noroeste do estado de São Paulo**. 217 p. Tese (Doutorado em Ciências biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 2006.

TADDEI, F. G., DA SILVA, D. X., & PEREIRA, F. A. METODOLOGIA PARA A INTRODUÇÃO DO MANEJO COMUNITÁRIO NA PESCA ARTESANAL DO CAMARÃO *MACROBRACHIUM AMAZONICUM* NAS COMUNIDADES DE PARINTINS/AM. **Marupiará | Revista Científica do CESP/UEA**, n. 4, p. 80-101, 2019.

TAKAHASHI, Y., ITAMI, T., KONDO, M., MAEDA, M., FUJII, R., TOMONAGA, S., ... BOONYARATPALIN, S. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). **Fish Pathology**, v. 29, n. 2, p. 121-125, 1994.

TAKINO, M.; LOBÃO, V. L.; GOLUBEFF, T.; LOMBARDI, J. V. Relações entre fatores climáticos e abióticos e o período reprodutivo das populações de *Macrobrachium birai* Lobão, Melo & Fernandes e de *Macrobrachium petronioi* Melo, Lobão & Fernandes (Decapoda, Palaemonidae) do Rio Branco, Cananéia, São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 67-80. 1989.

TANCREDO, K. R., NOBREGA, R. O., DIAS, T., & LAPA, K. R. Impactos ambientais da carcinicultura brasileira. In: **3rd International Workshop Advances in Cleaner Production: Cleaner Production Initiatives and Challenges for a Sustainable World**. Universidade Paulista, São Paulo. 2011. p. 18-20.

TANG, K. F., PANTOJA, C. R., POULOS, B. T., REDMAN, R. M., LIGHTNER, D. V. In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). **Diseases of aquatic organisms**, v. 63, n. 2-3, p. 261-265, 2005.

TANG, K. F., PANTOJA, C. R., REDMAN, R. M., LIGHTNER, D. V. A histological variant of white spot syndrome virus (WSSV) from the Kingdom of Saudi Arabia. **Journal of invertebrate pathology**, v. 113, n. 1, p. 82-85, 2013.

THORSON, G. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates: Biology Revis. **Cambridge Philosophy Society**, Cambridge, v. 25, p. 1-45. 1950.

TONG, Y., YANG, J., WANG, L., CHI, X., ZHU, C., YIN, R., ... & JIA, R. Effects of dietary supplementation of *Anabaena* sp. PCC7120 expressing VP28 protein on survival and histopathology after WSSV infection in *Macrobrachium nipponense*. **Fish & Shellfish Immunology**, p. 108865, 2023.

VALENTI, W. C. Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões. Brasília: IBAMA/FAPESP, 383 p, 1998.

- VALENTI, W. C., MELLO, J. D. T. C. D., CASTAGNOLLI, N. Efeito da densidade populacional sobre as curvas de crescimento de *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) em cultivo semi-intensivo (Crustacea, Palaemonidae). **Revista brasileira de Zoologia**, v. 10, p. 427-438, 1993.
- VAN HULTEN, M. C. W.; WITTEVELDT, J.; PETERS, S.; KLOOSTERBOER, N.; TARCHINI, R.; FIERS, M.; SANDBRINK, H.; LANKHORST, R. K.; VLAK, J. M. The white spot syndrome virus DNA genome sequence. **Virology**, v.286, p.7-22, 2001.
- VEGA-VILLASANTE, F., GARCÍA-GUERRERO, M. U., CORTÉS-JACINTO, E., YAMASAKI-GRANADOS, S., MONTOYA-MARTÍNEZ, C. E., VARGAS-CEBALLOS, M. A., ... NOLASCO-SORIA, H. G. Los camarones de agua dulce del género *Macrobrachium*: biología, ecología y explotación. **Temas sobre investigaciones costeras. Universidad de Guadalajara, Jalisco**, p. 273-315, 2014.
- VIDAL, M. F. **Carcinicultura**. 222. ed. Fortaleza: Banco do Nordeste, 2022. 10 p. Caderno Setorial ETENE.
- WANG, C. H., LO, C. F., LEU, J. H., CHOU, C. M., YEH, P. Y., CHOU, H. Y., ... & KOU, G. H. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. **Diseases of aquatic organisms**, v. 23, n. 3, p. 239-242, 1995.
- WANG, Y. T., LIU, W., SEAH, J. N., LAM, C. S., XIANG, J. H., KORZH, V., & KWANG, J. White spot syndrome virus (WSSV) infects specific hemocytes of the shrimp *Penaeus merguensis*. **Diseases of aquatic organisms**, v. 52, n. 3, p. 249-259, 2002.
- WILLINER, V.; COLLINS, P. Variacion espacio-temporal de la actividad del camaron dulceacuicola *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Ecologia**, Austrália, v. 12, n. 1, p. 3-10. 2002.
- WONGMANEERATEEP, S., CHUCHIRD, N., BAOPRASERTKUL, P., PROMPAMORN, P., THONGKAO, K., & LIMSUWAN, C. Effects of high water temperature on the elimination of white spot syndrome virus in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Fisheries and Environment**, v. 34, n. 2, p. 14-26, 2010.
- World Organisation for Animal Health (WOAH). 2023. Infection with white spot syndrome virus. Aquatic Manual. Chapter 2.2.8. Paris.
- YANG, F., HE, J., LIN, X., LI, Q., PAN, D., ZHANG, X., XU, X. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus. **Journal of virology**, v. 75, n. 23, p. 11811-11820, 2001.
- YIN, R., GUO, Y., WEI, Z., SHI, D., HE, P., & JIA, R. Pathogenicity of white-spot syndrome virus in *Macrobrachium nipponensis* via different infection routes. **Sheng wu gong cheng xue bao= Chinese Journal of Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 946-956, 2017.
- YOGANANDHAN, K., SATHISH, S., MURUGAN, V., NARAYANAN, R. B., & HAMEED, A. S. Screening the organs for early detection of white spot syndrome virus in *Penaeus indicus* by histopathology and PCR techniques. **Aquaculture**, v. 215, n. 1-4, p. 21-29, 2003.

YOGANANDHAN, K.; HAMEED, A. S. Tolerance to white spot syndrome virus (WSSV) in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* is associated with low VP28 envelope protein expression. **Diseases of aquatic organisms**, v. 73, n. 3, p. 193-199, 2007.

YOGANANDHAN, K.; HAMEED, AS S. Tolerance to white spot syndrome virus (WSSV) in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* is associated with low VP28 envelope protein expression. **Diseases of aquatic organisms**, v. 73, n. 3, p. 193-199, 2007.

YUN, J. M., KIM, B. S., HWANG, S. M., KIM, Y. B., CHOI, W. B., & CHOI, T. J. Artificial infection of the native Korean freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) (Decapoda, Palaemonidae) with white spot syndrome virus (WSSV). **Crustaceana**, v. 87, n. 7, p. 866-880, 2014.

ZAINATHAN, S. C., NORIZAN, N., MUSA, N., MUSA, N., SHAHAROM-HARRISON, F. White spot syndrome virus in wild mud crabs. In: **Aquaculture Pathophysiology**. Academic Press, 2022. p. 117-125.

ZHAO, C., FU, H., SUN, S., QIAO, H., ZHANG, W., JIN, S., ... & GONG, Y. Experimental inoculation of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* with white spot syndrome virus (WSSV). **Diseases of aquatic organisms**, v. 126, n. 2, p. 125-134, 2017.

ZHAO, C., FU, H., SUN, S., QIAO, H., ZHANG, W., JIN, S., ... GONG, Y. A transcriptome study on *Macrobrachium nipponense* hepatopancreas experimentally challenged with white spot syndrome virus (WSSV). **PLoS One**, v. 13, n. 7, p. e0200222, 2018.