

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

DIEGO FELISMINO APOLINÁRIO

**AVALIAÇÃO DO ESTADO SANITÁRIO DE CAMARÕES
(*Litopenaeus vannamei*) CULTIVADOS EM QUATRO
FAZENDAS NO ESTADO DO CEARÁ**

**FORTALEZA-CE
2009**

DIEGO FELISMINO APOLINÁRIO

**AVALIAÇÃO DO ESTADO SANITÁRIO DE CAMARÕES
(*Litopenaeus vannamei*) CULTIVADOS EM QUATRO
FAZENDAS NO ESTADO DO CEARÁ**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Área de concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos.

Orientadora: Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira, PhD.

**FORTALEZA-CE
2009**

S____s____Apolinário, Diego Felismino

Avaliação do Estado Sanitário de Camarões (*Litopenaeus vannamei*) Cultivados em Quatro Fazendas no Estado do Ceará
Diego Felismino Apolinário. 2009.
89 f.; Il. Color. enc.

Orientadora: Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira, PhD.
Área de concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas
Marinhos e Estuarinos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto
de Ciências do Mar – LABOMAR, Fortaleza, 2009.

1. Sanidade 2. Investigação 3. Histopatologia 4. *Litopenaeus vannamei*
I. Gesteira, Tereza Cristina Vasconcelos (Orient.) II. Universidade Federal do Ceará – curso de Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais III. Título.

Dedico, a meus pais, irmãos, sobrinhos e a minha namorada Juliana, pelo apoio e incentivo prestado em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A querida Professora Tereza Cristina Vasconcelos Gesteira pela recepção em seu laboratório CEDECAM, pela doação, dedicação, orientação e conhecimentos repassados para minha formação e elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, José Valdeci Apolinário e Maria de Fátima Felismino Apolinário pelo amor, dedicação e confiança para comigo.

Aos meus irmãos Igo, Nicole e Georgia pelo apoio durante a realização deste curso.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas: Marina, Thiago, Maria Eduarda, Beatriz, Matheus e Emanuel.

E em especial minha querida *Julia* pelo sempre apoio, companheirismo e incentivo em todos os momentos.

As grandes amigas Ana Cecília, Edirsana e Graça, pelos momentos compartilhados e todo o auxílio na realização das coletas.

Ao *Buda* pela confecção do mapa.

Ao Professor Antônio Adauto Fonteles Filho, pela enorme contribuição na análise estatística.

À FUNCAP, pela concessão da bolsa de mestrado.

À FINEP, pelo financiamento deste projeto.

A equipe do CEDECAM pelo auxílio imprescindível prestado na realização das coletas.

A todos os estagiários, estagiárias e bolsistas do CEDECAM que contribuíram para realização deste trabalho, em especial Filipe e Leandro.

E a Deus, pela presença e luz que me orientou nesta caminhada.

“Não são os mais fortes que sobrevivem, nem os mais inteligentes, mas sim os que respondem melhor as mudanças.” (Charles Darwin)

RESUMO

A aquicultura está crescendo mais rápido do que qualquer outro setor da produção de alimentos de origem animal, e mais do que a própria população, dentre esse segmento está a carcinicultura que representa um importante papel na economia mundial, devido à quantidade de empregos gerada e ao volume comercializado. No entanto, como em qualquer cultivo animal, a carcinicultura, enfrenta problemas com doenças, tanto de origem bacteriana como viral, sendo as de origem viral as que causam maiores perdas econômicas. Considerando o impacto que as enfermidades podem causar aos cultivos, esta pesquisa busca investigar sua ocorrência em fazendas de carcinicultura do Estado do Ceará. Para a realização do estudo foram selecionadas quatro fazendas de cultivo de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* em dois estuários do Estado do Ceará, sendo um em Aracati (Rio Jaguaribe) e outro em Acaraú (Rio Acaraú). A pesquisa foi realizada em duas estações do ano: estio e chuvosa, durante duas etapas do ciclo de cultivo, uma amostragem quando os camarões estavam com 4g e outra quando atingiam 8g. Em cada amostragem foram capturados 80 camarões, dos quais, 60 se destinavam a análise histopatológica e 20 para a realização da análise a fresco. Os resultados das análises a fresco demonstraram a presença de pouca uniformidade nos túbulos hepatopancreáticos, pouca uniformidade nos indivíduos, presença de gregarinas e a ocorrência *fouling* e epicomensais. As análises histopatológicas detectaram a presença de enfermidades de etiologia bacteriana: vibriose e Hepatopancreatite Necrosante (NHP), enfermidades de etiologia viral: Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV) e Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV), além da presença de parasitas como epicomensais e endoparasitas. O estudo pode concluir que o IMNV teve sua maior prevalência no período de chuva e o, IHHNV, NHP, para o período de estio. As vibrioses não tiveram relação com estações do ano, sendo a enfermidade maior prevalência em todo o estudo ao lado da necrose subcuticular.

Palavras chaves: Sanidade, investigação, histopatologia, *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT

The aquicultura is growing faster than any another sector of the food production of animal origin, and faster than the proper population, amongst this segment the shrimp culture represents an important paper in the world-wide economy, due to amount of jobs generated and to the commercialized volume. However, as in any animal culture, the shrimp culture faces problems with diseases, mainly of bacterial and viral origins, being of the viral origin the ones that causes the highest economic losses. Considering the impact that diseases can cause to the industry, this research searches to investigate their occurrence in the shrimp farms of the State of Ceará. For the accomplishment of the study four shrimps culture farms of *Litopenaeus vannamei* species had been selected in two estuaries of the State of the Ceará, being one in Aracati (Rio Jaguaribe) and another one in Acaraú (Rio Acaraú). The research was carried through in two seasons of the year: rainy and summer, during two stages of the culture cycle, a sampling when the shrimps were with 4g and another one when they reached 8g. In each sampling 80 shrimps had been captured, 60 were used on histopathological analyzes and 20 for the accomplishment fresh smears analyzes. The results of the fresh smears analyses had demonstrated the presence of deformities in the hepatopancreatico tubus, low uniformity individual growth, presence of gregarinas and the occurrence of fouling. The histopathological analyses had detected the presence of diseases of bacterial etiology: vibriose and Hepatopancreatite Necrosante (NHP), diseases of viral etiology: Infectious Mionecrose Viral (IMNV) and Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV), beyond the presence of fouling and endoparasits. The study had demonstrated that the IMNV had the highest prevalence in the rain season and, related IHHNV, NHP were related with the dry season. Vbrioses did not show relation with to the period of the year, but with subcuticular necroses were the disease that had greater prevalence in the study.

Key-works: Health, research, histopathology, *Litopenaeus vannamei*.

FIGURAS

FIGURA 1	Foto do <i>Litopenaeus vannamei</i> com aproximadamente 12cm e 10g.	05
FIGURA 2	Localização geográfica das quatro fazendas em estudo objeto da presente pesquisa.	26
FIGURA 3	Foto evidenciando a presença de camarões com tamanhos diferenciados entre 8 e 15 cm, amostrados no viveiro de cultivo em estudo da Fazenda D, durante o período de estiagem	33
FIGURA 4	A – Fotomicrografia mostrando túbulos do hepatopâncreas (T) bem formados; B – Detalhe de estrangulamentos na região apical nos túbulos (seta). Fotomicrografias realizadas em exames a fresco. Escala 200 µm.	34
FIGURA 5	Representação gráfica demonstrando a deformação dos túbulos do hepatopâncreas dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio.	34
FIGURA 6	Representação gráfica da presença de gotas de gordura no hepatopâncreas dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem.	35
FIGURA 7	A - <i>Zoothamnium sp.</i> ; B - <i>Epistylis sp.</i> observados em análises a fresco das brânquias de camarões provenientes das fazendas em estudo. Escala 200 µm.	36
FIGURA 8	Representação gráfica demonstrando a presença de organismos epicomensais nas brânquias dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio.	37
FIGURA 9	Foto de esporozoítos de gregarinas detectados em análise a fresco de camarões coletados nas fazendas em estudo. Escala 200µm.	38
FIGURA 10	Representação gráfica demonstrando a presença de gregarinas no conteúdo do trato digestório dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas, durante os períodos de chuva e de estio.	38
FIGURA 11	Representação gráfica demonstrando o percentual de IMNV dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem.	41
FIGURA 12	A – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando tecido muscular bem preservado; B – Fotomicrografia de secção histológica transversal demonstrando lesão causada por IMNV em fase inicial da infecção (seta), Fonte: Feijó, R. G. Escala 50µm.	42
FIGURA 13	A- Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do tecido muscular evidenciando lesão por IMNV na fase aguda da infecção; B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal no mesmo tecido demonstrando a fase crônica da infecção por IMNV com fibrose e presença de LOS (setas) Escala 50µm.	42

- FIGURA 14** Representação gráfica demonstrando o percentual de IHHNV dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem. **44**
- FIGURA 15** A- Fotomicrografia de secção histológica longitudinal evidenciando brânquias com características normais, Escala 100 µm. B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando corpos de inclusão intranucleares do tipo Cowdrey “A” (seta) nas lamelas branquiais, Escala 10 µm. **44**
- FIGURA 16** Representação gráfica demonstrando o percentual de vibriose nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio. **46**
- FIGURA 17** Representação gráfica demonstrando o percentual de necrose no epitélio subcuticular nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio. **47**
- FIGURA 18** A - Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando o epitélio subcuticular em estado normal (seta). B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do epitélio subcuticular necrosado por provável ação de bactérias (seta). C – Fotomicrografia de secção histológica transversal do Hepatopâncreas em estado normal. D – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do Hepatopâncreas com forte infiltração hemocítica entre os túbulos (seta) e placas bacterianas (P) Escala 50 µm. **48**
- FIGURA 19** A – Fotomicrografia de secção histológica das lamelas branquiais em seu estado normal. B - Fotomicrografia de secção histológica longitudinal demonstrando a ação de *Vibrio sp.* na lamela branquial (seta). Escala 50 µm **48**
- FIGURA 20** A – Fotomicrografia de secção histológica transversal do hepatopâncreas com infecção por NHP na fase crônica, verificando-se a ausência de células B e R, infiltração hemocítica (I) e deformação tubular (seta). B – Fotomicrografia de secção histológica transversal do Hepatopâncreas com NHP na fase aguda da enfermidade com atrofia severa dos túbulos (A), invasão hemocítica (I) e a presença de massas bacterianas (setas) Escala 200 µm. **49**
- FIGURA 21** Representação gráfica demonstrando o percentual de gregarinas presente nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio. **51**
- FIGURA 22** Fotomicrografia de secção histológica longitudinal da porção final do trato digestório evidenciando a presença de gametócito de gregarinas (seta) Escala 50 µm. **51**
- FIGURA 23** Representação gráfica demonstrando o percentual de *Fouling*. presente nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio. **52**
- FIGURA 24** A – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal de brânquias demonstrando a presença de *fouling* entre as lamelas branquiais, Escala 50 µm. B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal demonstrando a presença de *Epistylis sp.* aderidos as lamelas branquiais dos camarões analisados, Escala 20 µm. **53**

TABELAS

TABELA I	Tamanho amostral baseado em uma estimativa de prevalência do patógeno em uma população de camarões (modificado a partir de Amos 1985).	28
TABELA II	Classificação quantitativa do grau de severidade da infecção, infestação, enfermidade e síndrome, segundo Lightner, 1996.	29
TABELA III	Freqüência absoluta de indivíduos diagnosticados com diferentes patologias.	39
TABELA IV	Resultados zootécnicos obtidos nas fazendas em estudo durante os períodos de chuva e de estio.	55
TABELA V	Valores médios dos parâmetros ambientais mensurados nos viveiros em estudo durante os períodos de chuva e de estio.	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	04
2.1. Objetivo geral	04
2.1.1. Objetivos específicos	04
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	05
3.1. A espécie cultivada <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931)	05
3.2. O sistema imune dos invertebrados	07
3.3. Principais Enfermidades Registradas na Carcinicultura Brasileira	10
3.3.1. Enfermidades virais	10
➤ Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV)	10
➤ Vírus da infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHNV)	12
➤ Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV)	15
➤ Hepatopancreatite Viral (HPV)	16
➤ Vírus da Síndrome de Taura (TSV)	18
3.3.2. Enfermidades Bacterianas	20
➤ Vibrioses	20
➤ NHP (Hepatopancreatite Necrosante)	22
3.3.3. Enfermidades de Menor Impacto	24
➤ Parasitas (endoparasitas, epicomensais)	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. Área de estudo	26
4.2. Amostragem	27
4.3. Análise a fresco (ou presuntiva)	28
4.4. Análise histopatológica	30
4.5. Análise dos dados	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Análise a fresco (ou presuntiva)	32
5.1.1. Hepatopâncreas	33
5.1.2. Brânquias	36
5.1.3. Trato digestório	37

5.2. Análise histopatológica	38
5.2.1. Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV)	39
5.2.2. Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV)	43
5.2.3. Vibriose	45
5.2.4. Hepatopancreatite Necrosante (NHP)	49
5.2.5. Enfermidades de menor impacto (gregarinas e epicomensais)	50
6. Análise do Desempenho Zootécnico	53
7. CONCLUSÃO	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de pescado divide-se em dois segmentos: captura e a aquicultura. Com a redução drástica dos recursos pesqueiros, em algumas áreas onde muitos estoques atingiram seus índices máximos de exploração, a aquicultura tem surgido como potencial de suprimento destes produtos. O crescente incremento pela demanda por pescado no plano mundial está sendo compensado, em termos parciais, pelos aumentos registrados na produção aquícola, ao longo da última década. A produção mundial de pescado em 2006, proveniente da captura e aquicultura, alcançou em valores totais, cerca de 110 milhões de toneladas para o consumo humano (FAO, 2009).

A aquicultura está crescendo mais rápido do que qualquer outro setor da produção de alimentos de origem animal. O fornecimento per capita de produtos aquícolas aumentou de 0,7 kg no ano de 1970 para 7,8 kg em 2006, representando uma taxa de crescimento médio anual 6,9% com uma produção de 51,7 milhões de toneladas. No ano de 2006 a aquicultura proporcionou 47% do fornecimento de pescado para a alimentação. A aquicultura mundial é liderada pelos países do continente asiático, que contribuem com 89% do volume total produzido e 77% do valor de produção. Este domínio é essencialmente devido à grande produção da China, que contribui sozinha com 67% do volume de produção mundial e com 49% do valor global (FAO, 2009).

Nos últimos anos, dentre os segmentos da aquicultura mundial, o cultivo de camarão marinho vem apresentando grandes índices de crescimento. Questões como a elevada demanda do produto no mercado internacional, a grande rentabilidade do agronegócio, a capacidade de gerar emprego e renda para o desenvolvimento do setor primário de muitos países, dentre outros, impulsionaram definitivamente o crescimento desse segmento aquícola nos países costeiros tropicais da Ásia e das Américas (BRASIL, 2001).

A contribuição da aquicultura para a oferta mundial de crustáceos tem crescido rapidamente na última década, atingindo 42% da produção mundial em 2006 e neste mesmo ano, 70% dos camarões peneídeos produzidos no mundo (FAO, 2009).

A carcinicultura embora tenha uma história recente em relação aos demais segmentos da aquicultura, já ocupa a liderança mundial da produção neste setor. Realizando-se uma análise do crescimento da produção de camarão marinho proveniente de captura no período de 1997 – 2007, verifica-se que a produção cresceu apenas 25,95% enquanto que a produção em cultivo, para o mesmo período cresceu 253,61%. Vale salientar que participação da espécie *Litopenaeus vannamei* aumentou sua representatividade de 18,63% em 1997 para 70,11% em 2007, enquanto a espécie *Penaeus monodon* que até o ano de 2002 dominava a produção a nível mundial, teve sua participação reduzida de 51,77% para 18,01% no mesmo período (ROCHA; ROCHA, 2009).

A carcinicultura brasileira que vinha apresentando excelentes índices de crescimento, desde a introdução do cultivo da espécie *L. vannamei*, nos meados da década de noventa, enfrentou diversos problemas desde o ano de 2004 cuja produção foi de 76.000t, interrompendo o crescimento médio de 71% ao ano. No período de 2005 – 2007 houve uma nova queda da produção, estabilizando-se em 65.000t. Dentre os problemas que ocasionaram esta crise estão: o surgimento da Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV) que provocou forte queda na produção e produtividade na Região Nordeste; a ação “antidumping” movida pelos pescadores de camarão do E U A.; o surto da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) que afetou as fazendas de Santa Catarina e por último uma taxa de cambio altamente desfavorável (ROCHA, 2007).

Segundo dados da ABCC, a carcinicultura voltou a crescer 7,7% em 2008, com uma produção de 70.000t, no entanto sua produção ficou voltada para o mercado interno, mercado este que até então era tido como secundário e que a partir de 2006 ganhou a condição de mercado principal, passando de 34,6% em 2005 para 87% em 2008 (ROCHA; ROCHA, 2009).

A carcinicultura, como em qualquer cultivo animal, enfrenta problemas com doenças, tanto de origem bacteriana como viral, sendo as de origem viral as que causam maiores danos econômicos (FLEGEL, 2001).

Mais de 20 enfermidades virais já foram descritas em camarões peneídeos, sendo quatro destas de notificação obrigatória para o Escritório Internacional de Epizootias – OIE (HASSON *et al.*, 2005). Elevadas taxas de mortalidade gerando grandes perdas econômicas podem ser observadas na presença de algum destes quatro vírus: Vírus da Mancha Branca (WSSV), Vírus da Síndrome de Taura (TSV),

Vírus da Cabeça Amarela (YHV) e Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHNV) (LOH, *et al.*, 1998). Posteriormente no ano de 2008 foi incluído nesta mesma lista o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) devido impactos causados aos cultivos no Nordeste do Brasil. Dentre as cinco enfermidades virais de notificação obrigatória a única que não tem registros no Brasil é o Vírus da Cabeça Amarela (YHV). O WSSV foi diagnosticado no sudeste do Brasil, no final de 2004 e colocou em alerta o setor produtivo da carcinicultura brasileira devido à gravidade desta enfermidade, chegando a causar 100% de mortalidade nas fazendas atingidas (SEIFFERT *et al.*, 2005). A síndrome de Taura teve sua ocorrência registrada pela primeira vez na Região Nordeste do Brasil por Hasson *et al.*, 1995, além disso a mesma foi detectada também por Gesteira e Andrade, 2002; e Martins, 2003, no Estado do Ceará, contudo não foi registrado em sua ocorrência os impactos descritos em outros países. O Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHNV) é detectado rotineiramente em análises histopatológicas realizadas pelo Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM), localizado no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR).

As espécies aquáticas estão em contato direto com o ambiente e mudanças neste meio, como variação de temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido na água, podem levar a um desequilíbrio da interação entre os camarões e o meio aquático, tornando-os mais suscetíveis às doenças (SNIESZKO, 1973).

O cultivo de camarão é um agronegócio, que vem se consolidando como uma importante atividade sócio econômica da Região Nordeste. Ele possibilita o aproveitamento efetivo dos recursos naturais locais, com a geração de renda, criação de postos de trabalho e/ou auto-emprego. Em suma, a implantação de programas de aquicultura gera riqueza, trazendo ganhos significativos para a economia regional e nacional, criando empregos diretos e indiretos e melhorando a qualidade de vida da população local (VALENTI, 2000).

Considerando o impacto que as enfermidades podem causar aos cultivos, esta pesquisa busca investigar sua ocorrência em fazendas de carcinicultura do Estado do Ceará, gerando desta forma, dados científicos e uma contribuição ao setor produtivo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral: Aprofundar os conhecimentos sobre os fatores ligados à incidência das enfermidades que veem trazendo sérios prejuízos aos carcinicultores do Estado do Ceará.

2.1.1. Objetivos específicos:

- Traçar um perfil da sanidade dos cultivos;
- Caracterizar a sazonalidade de ocorrência de enfermidades;
- Registrar a presença das enfermidades em cada estuário, com o seu respectivo impacto;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A espécie cultivada *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

O camarão *Litopenaeus vannamei*, também conhecido como camarão branco do Pacífico, é uma espécie exótica ao litoral brasileiro (Figura 1). Esta espécie ocorre naturalmente no Pacífico leste desde Sonora, no México, até Tumbes, norte do Peru. É uma espécie marinha, com preferência por fundo de lama, onde é encontrada desde a região do infralitoral até profundidades de 72 metros. Na natureza pode chegar a 23 cm de comprimento. É a espécie pesqueira mais explorada no sul do México, Guatemala e El Salvador e a mais cultivada no hemisfério ocidental (FAO, 1980; BARBIERI JÚNIOR; OSTRENSKY NETO, 2002).



Figura 1 – Foto do *Litopenaeus vannamei* com aproximadamente 12cm e 10g.

O *Litopenaeus. vannamei* é um crustáceo decápodo, pertencente à família Penaeidae (HUNER; BROWN, 1985). Segundo Perez-Farfante e Kesley (1997), tem a seguinte classificação taxonômica:

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Classe: Malacostraca

Subclasse: Eumalacostraca

Superordem: Eucarida

Ordem: Decapoda

Subordem: Dendrobranchiata

Superfamília: Penaeoidea

Família: Penaeidae

Subfamília: Penaeinae

Gênero: *Litopenaeus*

Espécie: *Litopenaeus vannamei* - Boone, 1931

O *L. vannamei* foi introduzido no Brasil na década de 80, mas somente na década de 90 com a disponibilidade no mercado de rações de boa qualidade, além do domínio do ciclo de reprodução dos laboratórios nacionais, a atividade da carcinicultura passou a ganhar ritmo com o crescimento da produção, proliferando-se seu cultivo pelo país e revolucionando a carcinicultura marinha nacional (PINHEIRO; AMARO FILHO; MARACAJÁ, 2007).

O critério básico para a adoção da nova espécie foi o fato de ser cultivada com êxito no Equador e Panamá e haver demonstrado capacidade de adaptação aos ecossistemas de diferentes partes do hemisfério ocidental. Atualmente o *L. vannamei* é a única espécie de camarão marinho cultivada comercialmente, no Brasil. Isto se deve à sua boa adaptação, elevado grau de rusticidade e ao seu rápido crescimento em todas as fases do processo produtivo, além do que, suporta ambientes com elevada amplitude térmica, entre 9 e 34 °C (BRASIL, 2001). As pós-larvas do camarão *L. vannamei* são hoje produzidas em larga escala no País e, durante a engorda, aceitam facilmente rações comerciais, tolerando uma ampla variação na salinidade da água, de 0,5 até 65 ups (unidades práticas de salinidade = ‰) (NUNES, 2002).

Em pouco tempo o *L. vannamei* demonstrou seu elevado grau de rusticidade crescendo bem em uma grande gama de condições ambientais e apresentando níveis de produtividade e de competitividade muito superiores aos alcançados com as espécies até então cultivadas no País (BRASIL, 2001)

No Brasil, a introdução de *L. vannamei* foi fundamental para o desenvolvimento da carcinicultura. Porém, por se tratar de uma espécie exótica, seus processos de adaptação, manejo e propagação demandou uma série de

desafios e conquistas importantes. Dentre estes se encontram: a produção auto-suficiente de pós-larvas; criação de bancos de reprodutores, para acabar com a dependência externa de matrizes; oferta de rações de boa qualidade; além da completa reformulação dos processos tecnológicos adotados até então. Devido a sua importância para a aquicultura e a excelente qualidade da carne (destacando-se seu sabor característico, firmeza e coloração), o *L. vannamei* se tornou uma espécie bem conhecida e aceita no mercado internacional (BARBIERI JÚNIOR; OSTRENSKY NETO, 2002).

A espécie *L. vannamei* é atualmente a mais cultivada no mundo com participação de 62,08% das espécies cultivadas (FAO, 2009). Este aumento deveu-se a crescente substituição do cultivo da espécie *Penaeus monodon*, em países asiáticos, principalmente na China, Tailândia e Taiwan (ROCHA; ROCHA, 2009).

3.2. O sistema imune dos invertebrados

Os invertebrados, incluindo os crustáceos possuem apenas um sistema imune inato ou natural, diferentemente dos vertebrados, que possuem um potente sistema imune com linfócitos e imunoglobulinas, ou seja, um sistema imune adaptativo ou adquirido. Como se sabe, os crustáceos não possuem um sistema imunológico específico ou com capacidade de memória que impede o uso de vacinas. A resposta imune dos crustáceos se diferencia entre efeitos celulares e humorais, agindo em conjunto para eliminar o microorganismo invasor (BERGER, 2000).

A hemolinfa é composta por uma fração celular que são os hemócitos e pelo plasma que contém inúmeras moléculas e muitas destas participam das respostas imunes humorais. O sistema imune celular dos crustáceos é composto pelos hemócitos e estes são capazes de realizar fagocitose de microorganismos, encapsulação, formação de nódulos e citotoxicidade (SÖDERHÄLL e CERENIUS, 1992).

Os principais sistemas de defesa atualmente reconhecidos nos crustáceos são: (1) coagulação da hemolinfa; (2) melanização mediada pelo sistema pró-fenoloxidase; (3) reconhecimento e aglutinação celular mediada por lectinas; (4)

sistemas antibacterianos, antifúngicos e antivirais mediados por peptídeos, RNA de interferência e por proteínas de reconhecimento padrão; (5) produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio; e (6) sistema fagocítico e de encapsulamento (IWANAGA; LEE, 2005).

Os crustáceos decápodes de um modo geral possuem três diferentes tipos de hemócitos: (1) hialinos (HH) caracterizados pela ausência de grânulos, apesar de inclusões citoplasmáticas de origem desconhecida serem observadas; (2) semigranulares (HSG) contêm um número variável de grânulos pequenos no citoplasma; (3) granulares (HG) preenchidos com grânulos grandes. Os HHs de crustáceos são descritos como os menores hemócitos, com alta relação núcleo-citoplasmática e contendo de nenhum a poucos grânulos. Segundo Hose; Martin; Gerard (1990), estas células possuem linhagem distinta dos granulares e teriam como função essencial os mecanismos de coagulação. Os hemócitos granulares (HGs e HSGs) são as células mais abundantes e ricas em grânulos citoplasmáticos de diversos tamanhos e conteúdos. Alguns autores apontam os HSGs como formas intermediárias e que, após amadurecimento, transformam-se em HGs (BAUCHAU, 1981; HOSE; MARTIN; GERARD, 1990; SODERHALL; CERENIUS, 1992; GARGIONI; BARRACCO, 1998). Quanto à função, os hemócitos granulares parecem estar envolvidos principalmente na fagocitose de microrganismos, na formação de cápsulas e nódulos e também na produção de moléculas tóxicas e microbidas (HOSE; MARTIN; GERARD, 1990; GARGIONI; BARRACCO, 1998; VAN DE BRAAK *et al.*, 2002a).

O processo de fagocitose é a primeira linha de defesa celular do sistema imune contra a invasão de microorganismos, este processo ocorre com a migração dos hemócitos para o local da invasão onde o agente estranho é englobado e interiorizado dentro de um fagossomo, que posteriormente se funde com vesículas e grânulos presentes no citoplasma. Uma vez fundidas estas duas estruturas, um arsenal de compostos degradativos e microbidas são liberados nos vacúolos fagocíticos, levando a degradação ou neutralização das partículas endocitadas (MARTIN *et al.*, 1996). A formação de nódulos se dá quando o organismo é invadido por patógenos de grande tamanho ou por uma grande quantidade de microorganismos (BAYNE, 1990).

Em algumas reações de defesa, uma série de substâncias que estão presentes em pequenas quantidades na hemolinfa ou que aparecem durante o curso

de uma infecção, tem sua síntese estimulada. Essas substâncias estão envolvidas no reconhecimento, na mediação da resposta imune celular ou na resposta direta antimicrobiana. Entre elas estão as espécies ativas de oxigênio (EAO), as lectinas e os peptídeos ou proteínas antimicrobianas (AMPs) (MENDONZA; FAYE, 1999; KAWABATA; IWANAGA, 1999).

A produção de espécies ativas de oxigênio ocorre tanto nos vertebrados como nos invertebrados, este processo é acompanhado de um aumento no consumo de oxigênio fenômeno conhecido como “*burst*” respiratório, que termina com a inibição do crescimento ou completa destruição dos agentes invasores, resultando na produção de uma variedade de espécies intermediárias altamente reativas de oxigênio (do inglês, ROIs) e de nitrogênio (do inglês, RNIs) (ANDERSON, 1996; ROCH, 1999; BOGDAN; ROLLINGHOFF; DIEFENBACH, 2000).

As peneidinas ou peptídeos antimicrobianos (PAM) são liberados pelos hemócitos na hemolinfa por degranulação e atuam no sistema imune dos crustáceos e moluscos podendo atuar contra bactérias, fungos leveduras e, em alguns casos, até contra vírus e protozoários, sendo raramente tóxicos para células eucarióticas. A manifestação destes antibióticos naturais ocorre degradando ou provocando a lise dos microorganismos. O armazenamento é realizado no interior das células fagocíticas, onde atuam intracelularmente com as enzimas lisossomais e os mecanismos oxidativos, culminando na destruição dos microorganismos fagocitados (GANZ; LEHRER, 1998; DESTOUMIEUX *et al.*, 1999).

Os fatores humorais compreendem, moléculas de reconhecimento como as lectinas, o sistema profenoloxidase (proPO) que envolve a formação de vários compostos citotóxicos intermediários que culminam na produção do pigmento escuro melanina e o sistema de coagulação (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008).

As lectinas são proteínas com afinidade por carboidratos e estão relacionadas a vários fenômenos de reconhecimento celular, incluindo adesão a hemócitos e microorganismos. Entretanto, as lectinas se limitam aos resíduos de açúcares específicos da superfície de patógenos (BORNEMAN; LOWRIE, 1998).

Os crustáceos possuem sistema circulatório aberto ou semi-aberto. Portanto, a coagulação da hemolinfa é um mecanismo imunológico muito importante, que previne tanto a sua perda, quanto a invasão de patógenos ao animal (SODERHALL; CERENIUS, 1992). A reação de coagulação depende da enzima transglutaminasa (TGasa) e durante este processo a proteína de coagulação CP é o componente

principal na gelificação do plasma que resulta em coágulos estáveis através da reação de união cruzada entre suas moléculas mediadas pelo TGasa (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008).

A biossíntese de melanina nos artrópodes é um processo complexo envolvendo uma série de reações químicas em cascata, denominadas de sistema de ativação da profenoloxidase (proPO). A melanina confere uma característica escura nas regiões onde se deposita. Uma das principais respostas imunoefetoras dos camarões é o sistema proPO, que é desencadeado por componentes da superfície dos microorganismos como os lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias gram-negativas ou peptidoglicanos e β -1,3- glicanas de fungos (CERENIUS; LEE; SODERHALL, 2008).

3.3. Principais Enfermidades Registradas na Carcinicultura Brasileira

As enfermidades que afetam o cultivo de camarões incluem síndromes com etiologias infecciosas e não infecciosas. Dentre as enfermidades infecciosas estão aquelas que são ocasionadas por vírus, bactérias, fungos, protozoários e metazoários. Entre as não infecciosas estão os fatores ambientais, nutricionais, agentes tóxicos ou fatores genéticos (PANTOJA; LIGHTNER, 2008).

Dentre as enfermidades já registradas no Brasil, as que causaram maiores impactos econômicos foram: o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) e o Vírus Síndrome da Mancha Branca (WSSV).

3.3.1 Enfermidades virais

➤ Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV)

A IMNV, inicialmente denominada Necrose Idiopática Muscular (NIM) foi relatada pela primeira vez em setembro de 2002 no Estado do Piauí, onde os

camarões moribundos exibiam perda de transparência do músculo abdominal e uma incidência persistente na mortalidade diária, em indivíduos a partir de 7g. Em virtude da sintomatologia presente não ser compatível com nenhuma enfermidade conhecida, foi realizada uma ampla investigação dos possíveis agentes etiológicos que estariam envolvidos no problema. Em fevereiro de 2004, depois da realização de vários estudos, foi confirmado por microscopia eletrônica que se tratava de um novo vírus que foi denominado vírus da mionecrose infecciosa com formato icosaédrico, não envelopado de 40 nm, apresentando genoma de dupla fita de RNA, pertencente à Família Totiviridae (NUNES; MARTINS; GESTEIRA, 2004; LIGHTNER, 2004a, b). Após a primeira detecção do IMNV no Estado do Piauí, esta enfermidade foi posteriormente registrada no Estado do Ceará, Maranhão, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Paraíba. Segundo Senapin (2007), sua presença foi confirmada na Indonésia, em 2006. De acordo com Rocha (2007), a incidência desta enfermidade na atividade provocou significativo impacto na produção por um período de três anos de 2004 a 2006.

Devido às características dessa enfermidade, a IMNV foi incluída na última atualização da lista de doenças de notificação obrigatória do Escritório Internacional de Epizootias (*Office International des Epizooties - OIE*), realizada no dia 21 de janeiro de 2008. Homologada no dia 4 de junho do mesmo ano, essa notificação mostra que o vírus ocorre no País e medidas sanitárias ou até mesmo um controle e erradicação da doença devem ser implantados (FIGUEIREDO; LEAL, 2008).

Segundo Nunes; Martins; Gesteira (2004) indivíduos afetados por IMNV apresentam como sintomatologia a necrose dos músculos estriados do abdômen e do cefalotórax. Estas condições são observadas macroscopicamente através da perda da transparência da cauda, que se torna opaca com áreas de aspecto leitoso e em estágios mais avançados, o apodrecimento das áreas afetadas resulta em uma cor alaranjada.

A enfermidade pode ser diagnosticada através de análise histopatológica e ferramentas moleculares. Na histopatologia utilizando-se de técnicas de histologia clássica e coloração em Hematoxilina e Eosina (H&E), são detectadas diferentes alterações no tecido muscular, conforme o grau de severidade da enfermidade. Também pode ser observado hipertrofia do órgão linfóide ocasionada por acumulação de esferóides - LOS (do inglês *lymphoid organ spheroids*) e a presença de esferóides ectópicos em outros órgãos como no coração e hepatopâncreas. As

lesões do tecido muscular dependem do grau de severidade da infecção e podem apresentar reduzidas infiltrações hemocíticas em uma fase inicial. A fase aguda se caracteriza por necrose de coagulação com presença de edemas e elevada destruição das fibras musculares, muitas vezes substituídas por tecido conjuntivo. A necrose de liquefação com infiltração hemocítica e fibrose caracteriza a fase crônica da enfermidade, quando os LOS ectópicos são mais comumente visualizados (LIGHTNER *et al.*, 2004a, b; GESTEIRA, 2006; PEREIRA, MENDES; GESTEIRA, 2008).

Dentre as ferramentas moleculares de diagnóstico, estão: a hibridização *in situ* que consiste em sondas genéticas específicas, que foi desenvolvida e otimizada por Tang *et al.*, (2005); a transcrição reversa do RNA total seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e RT-PCR em tempo real (qRT-PCR) (ANDRADE *et al.*, 2007; ANDRADE; REDMAN; LIGHTNER, 2008).

Ensaio demonstraram que camarões das espécies *Litopenaeus stylirostris* e *Penaeus monodom* também se mostraram susceptíveis a esta enfermidade, apresentando os sinais clínicos e alterações nos tecidos compatíveis com a enfermidade (TANG, *et al.*, 2005). Posteriormente Coelho *et al.* (2009), também confirmaram a susceptibilidade do camarão rosa *Farfantepenaeus subtilis* frente ao IMNV.

➤ **Vírus da infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHNV)**

O IHHNV foi primeiramente descrito por Lightner; Redman e Bell (1983a, 1983b), diagnosticado e isolado em pós-larvas do camarão azul *L. stylirostris* e no camarão branco *L. vannamei* em instalações de aquicultura no Havaí. O virião tem forma icosaédrica, não envelopado com tamanho de 22nm de fita única de DNA, muito pequeno. É considerado o menor de todos os vírus que acometem os peneídeos e pertence ao gênero *Brevidensovirus* da Família Parvoviridae.

O IHHNV é uma enfermidade altamente letal, causando mortalidades de até 90% em populações de espécies susceptíveis como o camarão *L. stylirostris*. Os sintomas clínicos observados são: reduzida ingestão alimentar, mudança de coloração, antenas e cutículas enrugadas, crescimento reduzido ou ampla variação

de tamanho e outras mudanças comportamentais (BROCK; LIGHTNER; BELL, 1983; OWENS *et al.*, 1992a; LIGHTNER, 1993; PANTOJA; LIGHTNER; HOLTSCMIT, 1999; TANG; LIGHTNER, 2002, 2006; BING *et al.*, 2006)

A transmissão desta enfermidade ocorre de forma horizontal e vertical (LIGHTNER, 1996a). Tem sido observado que outras espécies de peneídeos como o *L. vannamei* e *P. monodon* respondem de forma diferente a infecção, apresentando sintomas da enfermidade crônica denominada síndrome do nanismo deformativo (do inglês *Runt Deformity Syndrome* - RDS), que reduz o crescimento e pode causar deformidade no rosto e alterações cuticulares sem, contudo, provocar elevados índices de mortalidade (BROCK; LIGHTNER; BELL, 1983; BELL; LIGHTNER, 1984). Assim, os impactos econômicos da infecção do IHHNV em camarões *L. vannamei* são devido ao crescimento reduzido e irregular dos camarões por ocasião da despesca, e não devido a elevadas taxas de mortalidade (LIGHTNER, 1999).

Segundo a OIE 2003, a distribuição geográfica do IHHNV em camarões aumentou significativamente, desde a sua descoberta no início de 1980 e considerando os danos causados à indústria do camarão cultivado, esta se tornou uma enfermidade de notificação obrigatória.

Este vírus é amplamente distribuído em instalações aquícolas em todo o mundo com relatos em Taiwan, Singapura, Malásia, Tailândia, Indonésia, Austrália, Nova Caledônia, Filipinas, Havaí, Taiti, Flórida, Texas, Ilhas Caimão, Israel, Panamá, Costa Rica, Belize, México, Equador, Guam, Brasil, Honduras, Jamaica e França (GUZMÁN; VALLE, 2000). É uma enfermidade endêmica em peneídeos selvagens no Indo-Pacífico e Equador.

No Brasil, esta enfermidade foi registrada pela primeira vez por Bueno (1991), em camarões *P. monodon* e *L. vannamei* que apresentavam redução significativa na taxa de crescimento e deformações externas, sintomas compatíveis com a RDS. Posteriormente, foi registrado em cultivos intensivos e semi-intensivos de *L. vannamei* por Gesteira e Andrade (2002) e Martins (2003). Desta forma pode-se dizer que esta enfermidade é detectada rotineiramente em análises histológicas e de PCR de camarões provenientes de fazendas de cultivo (GESTEIRA, 2006).

Oliveira- Neto (2006) detectou indivíduos portadores do IHHNV em ambiente natural em áreas de entorno de fazendas de carcinicultura do litoral leste do Estado do Ceará, em camarões das espécies *Farfantepenaeus brasiliensis*, *F. subtilis* e

Litopenaeus schmitti. Foi demonstrado por Coelho *et al.* (2009), em infecção experimental, a susceptibilidade da espécie *Farfantepenaeus subtilis* frente ao IHHNV.

Estudos realizados por Tang (2003), utilizando isolados deste vírus de várias regiões geográficas, empregando diferentes métodos de comparação, revelaram que existem quatro grupos de linhagens. Em estudo realizado por Feijó (2008), no Estado do Ceará analisando a variabilidade genética do IHHNV foi identificado que as sequências produzidas mostraram de 99 a 100% de identidade com aquelas provenientes do vírus isolado nas Américas (Havaí e Equador). Para vírus isolado em países asiáticos (Taiwan e Tailândia) a similaridade variou entre 98 e 99% e a menor similaridade foi para países africanos (Madagascar e Tanzânia) com valores entre 91 e 95%. Com base nos resultados obtidos, foi construída uma árvore por Neighbour-Joining a partir do alinhamento dos fragmentos de DNA do IHHNV encontrado em fazendas do Nordeste brasileiro, com sequências de IHHNV isolados em países da América, Ásia e África, sendo evidenciado o grau de proximidade filogenética do vírus encontrado no Brasil em relação aos vírus isolados no Equador e Havaí.

O diagnóstico da enfermidade pode ser realizado através da histopatologia, hibridização *in situ*, dot-blot, PCR e PCR em tempo real. Em cortes histológicos, é observada a presença de corpos de inclusão intranucleares, tipo Cowdrey A (CAIs) (do inglês Cowdrey A intranuclear bodies), eosinofílicos e margeados por cromatina, causando hipertrofia dos núcleos e atingindo tecidos de origem ectodérmica (brânquias, epiderme, epitélio do intestino anterior e posterior, cordão nervoso e gânglios associados) e mesodérmica (tecido hematopoiético, glândula antenal, gônadas, órgão linfóide, tecido conjuntivo e muscular). Estas alterações só podem ser observadas quando os indivíduos são fixados com soluções que contenham ácido acético como o Davidson (AFA) e coradas por H&E (LIGHTNER, 1993; LIGHTNER, 1996a; ALDAY DE GRAINDORGE; FLEGEL, 1999).

➤ Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV)

Atualmente, o WSSV é o patógeno que causa maiores impactos à indústria do camarão cultivado e está dentre as enfermidades de notificação obrigatória na OIE (OIE, 2002). O vírus da mancha branca tem causado grandes mortalidades de camarão, desde 1993 (LO *et al.*, 1996; NANHAI; QIN; XU., 2005). A primeira ocorrência da doença foi observada no Norte da Ásia, na China e no Japão em 1992, tendo logo se espalhado para a região Sul do continente asiático (CHEN, 1992; INOUE, *et al.*, 1994; LO *et al.*, 1999). Em 1995, o WSSV foi detectado nos Estados Unidos, em camarões nativos e em fazendas de cultivo no Estado do Texas e na Carolina do Sul (NUNAN; LIGHTNER, 1997; NUNAN *et al.*, 1998). Além disso, foi encontrado em países da América Central como Guatemala, Honduras, Panamá e Equador (ROMANO, 2005). No Equador, antes do aparecimento da enfermidade, a produção foi de 130.000 t em 1998 e em 2000, quando a doença estava no seu auge, caiu para 37.000 t (PAREDES, 2005). Atualmente, a enfermidade está presente também no México, Nicarágua, Costa Rica, Peru e Colômbia (PANTOJA; LIGHTNER, 2008). O surgimento da WSSV no Sudeste do Brasil, no final de 2004, provocou uma quebra de produção na área atingida. Em algumas fazendas afetadas, chegou a causar 100% de mortalidade (SEIFFERT *et al.*, 2005). Em recente trabalho realizado por Feijó (2009), o WSSV foi diagnosticado em uma fazenda no Estado do Ceará, contudo não foram observados índices de mortalidades similares, embora no final do ciclo de cultivo, tenha sido registrada uma sobrevivência média de 37%. Entretanto, esta enfermidade já havia sido registrada no Estado na Região de Aracati e notificada a OIE no ano de 2005 observando-se a presença de sinais clínicos com taxa de mortalidade de 40% (OIE, 2005).

O Agente etiológico do WSSV é um vírus baciliforme, envelopado, com um nucleocapsídeo na forma de bastão, medindo $121 \pm 9\text{nm} \times 276 \pm 26\text{nm}$, composto por DNA circular de dupla fita. Ele foi recentemente classificado em uma nova Família, a *Nimaviridae* do gênero *Whispovirus* (MAYO, 2002a, b; VLAK *et al.*, 2005).

O WSSV é muito virulento podendo causar até 100% de mortalidade dentro de 3-7 dias após a infecção, em fazendas comerciais de cultivo de camarões, resultando em grandes perdas econômicas (WANG *et al.*, 1998). O vírus tem um elevado número de hospedeiros e afeta quase todas as espécies de camarões e

crustáceos cultivadas (LO, *et al.*, 1997; RAJENDRAN, *et al.*, 1999; SANCHEZ-MARTINEZ; AGUIRRE-GUZMAN; MEJIA-RUIZ, 2007).

Os sintomas do WSS não se manifestam até que os camarões tenham atingido PL20 - PL21. Os principais sintomas da infecção são: camarões letárgicos, exibindo um nado lento na superfície; baixo consumo alimentar; corpo com uma coloração rosada a pardo-avermelhado; cauda vermelha associada à expansão de cromatóforos (condição similar àquela causada pelo Vírus da Síndrome de Taura - TSV); mortalidade de até 100% após a exibição dos sinais clínicos e/ou manchas brancas de 0,5 mm a 2,0 mm de diâmetro no interior da superfície do exoesqueleto (NUNES; MARTINS, 2002; PANTOJA; LIGHTNER, 2008).

Segundo a OIE (2003), existem três principais métodos de detecção do vírus WSS, a análise histopatológica utilizando-se de coloração H&E e técnicas de PCR e PCR em tempo real. Diagnósticos baseados em sondas moleculares como hibridização *in situ* e *dot blot* também são considerados confirmatórios. Pantoja e Lightner (2008) citam a utilização de montagem a fresco (análise presuntiva) como mais uma ferramenta de diagnóstico, necessitando posteriormente de diagnóstico confirmativo, como os indicados acima. De acordo com estes autores, a análise a fresco é realizada através de montagens de brânquias e tecido conjuntivo do estômago, quando podem ser visualizados núcleos hipertrofiados e vacuolizados. O diagnóstico histológico baseia-se na observação de hipertrofia nuclear margeada por cromatina, devido aos corpos de inclusão, inicialmente eosinofílicos, que se tornam basófilicos com o avanço dos estágios da infecção. No início do desenvolvimento da enfermidade os corpos de inclusão são eosinofílicos, rodeados de um halo claro de cromatina muito parecido com os corpos de inclusão de IHHNV, requerendo, portanto o uso de diagnósticos moleculares com sondas específicas, para análise confirmatória (LIGHTNER, 1996a).

➤ **Hepatopancreatite Viral (HPV)**

A Hepatopancreatite viral foi descrita pela primeira vez em Singapura nas fazendas de cultivos de camarão marinho (CHONG; LOH, 1984).

Posteriormente Lightner e Redman (1985), descreveram o agente etiológico causador da hepatopancreatite, como um vírus não-envelopado, icosaédrico, medindo 22-23 nm de diâmetro e contendo DNA de fita simples como material genético, pertencente ao gênero *Parvovirus* da família Parvoviridae.

A sua gama de hospedeiros naturais também inclui *L. vannamei*, *P. esculentus*, *Fenneropenaeus indicus* e *F. penicillatus*, e sua distribuição geográfica corresponde ao Indo-Pacífico (China, Coreia, Taiwan, Filipinas, Malásia, Singapura, Indonésia, Tailândia e Austrália), a África (Quênia), ao Oriente Médio (Israel e Kuwait), e nas Américas (Brasil, Equador, México e Havaí) (LIGHTNER; REDMAN, 1992; LIGHTNER, 1993).

Segundo Bueno (1991), a entrada do HPV no Brasil ocorreu provavelmente através da importação do *F. penicillatus* e se constituiu no primeiro registro no continente americano. Após o registro inicial nas espécies *F. penicillatus* e *L. vannamei* introduzidas no Brasil, e na espécie *L. schimitti*, foi diagnosticado através de análises histológicas, em indivíduos assintomáticos de *L. vannamei* cultivados no Ceará (GESTEIRA; ANDRADE, 2002; MARTINS, 2003).

Os indivíduos infectados podem não apresentar sinais clínicos, contudo, dependendo da carga viral, observa-se atrofia e coloração esbranquiçada no hepatopâncreas, anorexia, crescimento reduzido, letargia e infecções por organismos epicomensais, e são comuns infecções secundárias por *Vibrio sp.* (LIGHTNER 1993; FLEGEL, *et al.*, 1999).

Uma série de métodos diagnósticos foram desenvolvidos para detecção do vírus, incluindo análises histológicas com coloração H & E, Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), hibridização *in situ* e reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas variações (SUKHUMSIRICHART *et al.*, 2002). Análises histológicas de lâminas coradas por H&E detectam nas células dos túbulos do hepatopâncreas de camarões infectados, a presença de corpos de inclusão fortemente eosinofílicos. Uma característica peculiar desta enfermidade é o deslocamento do nucléolo para a lateral e sua associação com o corpo de inclusão, lembrando o desenho de um boné (GESTEIRA, 2006).

➤ Vírus da Síndrome de Taura (TSV)

O agente etiológico desta enfermidade foi inicialmente classificado como um membro da Família Picornaviridae. É um pequeno vírus de RNA de fita simples de formato icosaédrico de 10,2kb, 32nm de diâmetro e se replica no citoplasma (BONAMI *et al.*, 1997) Posteriormente, foi atribuído pertencer à Família Dicistroviridae do gênero Cripavirus (MAYO, 2002a).

O vírus da Síndrome de Taura (TSV) surgiu em fazendas de camarão localizadas próximo à foz do Rio Taura no golfo de Guayaquil, no Equador, em meados de 1992. A doença causou perdas catastróficas com taxas de mortalidade cumulativas de 60 a 90%, em viveiros com indivíduos da espécie *L. vannamei* em estágio juvenil (JIMENEZ, 1992, LIGHTNER *et al.*, 1995). Inicialmente, especulava-se a aplicação de fungicidas e pesticidas utilizados em plantações de banana como causadores da enfermidade (HASSON *et al.*, 1995). Contudo em 1994, um vírus foi identificado como sendo o agente causador da Síndrome de Taura. O TSV foi responsável pelo colapso da indústria equatoriana em 1993 (BROCK *et al.*, 1995, 1997; HASSON *et al.*, 1995).

O principal hospedeiro e a espécie mais susceptível a enfermidade da Síndrome de Taura é o camarão branco, *L. vannamei*, embora outras espécies possam ser infectadas e apresentarem a doença (AGUIRRE; VALLE, 2000; HASSON *et al.*, 1995, 1999a; LIGHTNER, 1999; OVERSTREET *et al.*, 1997; ROBLES-SIKISAKA *et al.*, 2001). Mortalidades acumuladas devido às incidências de TSV variaram de 40 a 90% em populações cultivadas de pós-larvas (PL), juvenis e sub-adultos de *L. vannamei*. Sobreviventes de infecções de TSV podem ser portadores do vírus e transmiti-lo a seus descendentes (BROCK *et al.*, 1995, 1997; HASSON *et al.*, 1999a; LIGHTNER, 1996a, b; LOTZ, 1997).

TSV também pode infectar outras espécies de peneídeos do Hemisfério Ocidental (*L. stylirostris*, *L. setiferus*, *L. schmitti*, *F. aztecus*, *F. duorarum*), às vezes causando mortalidade em pós-larvas ou em estágios juvenis, podendo também ocorrer em indivíduos assintomáticos. Peneídeos do Hemisfério Oriental (*F. chinensis*, *P. monodon*, *Marsupenaeus japonicus*) foram infectados experimentalmente com TSV e mostraram-se susceptíveis. Estes, quando

sobreviveram à infecção, também foram capazes de transmitir a enfermidade a seus descendentes (BROCK *et al.*, 1997; OVERSTREET *et al.*, 1997).

A enfermidade foi introduzida nas Américas e na Ásia pela entrada de indivíduos infectados para fins de cultivo (BROCK *et al.*, 1997; YU; SONG, 2000). Relatórios de ocorrência da enfermidade incluem o Equador, Peru, Colômbia, Honduras, Jamaica, Guatemala, El Salvador, Brasil, Nicarágua, Belize, e E.U.A., os estados mexicanos de Sonora, Sinaloa, Chiapas, Guerrero, Yucatan, e mais recentemente Taiwan (LIGHTNER, 1996a, b; CHIEN *et al.*, 1999, Yu; Song, 2000).

Os sinais clínicos dos indivíduos infectados por TSV permitem classificar três diferentes fases de infecção: aguda, a crônica e de recuperação. Na fase aguda os indivíduos apresentam letargia, anorexia, natação errática e cromatóforos expandidos no urópodo e nos pleópodos. Os camarões nesta fase tendem a morrer durante o processo de muda. Os sobreviventes da etapa anterior iniciam a fase crônica ou de recuperação da enfermidade e apresentam lesões melanizadas multifocais na cutícula. Os camarões podem então entrar na fase de recuperação ou voltarem à fase aguda da enfermidade, dependendo das condições ambientais (LIGHTNER *et al.*, 1995; HASSON *et al.*, 1999b).

Foi demonstrado que este vírus permanece infeccioso nas fezes de gaivotas que tenham ingerido camarões infectados, podendo ser as aves uma importante via de transmissão do vírus nas regiões afetadas (GARZA *et al.*, 1997; LIGHTNER 1999).

Análises filogenéticas de isolados de TSV de 1993 a 2004 revelaram haver três grandes grupos designados como das Américas, Belize e Sudeste asiático (Tang; Lightner, 2005).

A Síndrome de Taura é uma enfermidade de notificação obrigatória, segundo o Escritório Internacional de Epizootias (OIE, 2000) e seu diagnóstico pode ser realizado por hibridização *in situ*, histopatologia, dot blot e PCR e suas variantes. Na análise histopatológica com coloração por H&E identifica-se necrose multifocal nos apêndices, brânquias, trato digestório anterior e posterior e epitélio cuticular em geral, observando-se eosinofilia mais intensa no citoplasma do epitélio cuticular, picnose nuclear e cariorrexis. Inclusões citoplasmáticas esféricas são observadas na fase aguda da infecção. A fase crônica é caracterizada histologicamente pela presença de numerosos esferóides do órgão linfóide (LOS), na ausência de outra patologia (HASSON *et al.*, 1999c).

3.3.2 Enfermidades Bacterianas

➤ Vibrioses

O acometimento de vibrioses é geralmente causado por um desequilíbrio na população das bactérias do gênero *Vibrio* que ocorrem naturalmente nos ecossistemas estuarino e marinho, encontrando-se amplamente distribuídas em fazendas de cultivo de todo o mundo (TSUKAMOTO *et al.*, 1993; PANTOJA; LIGHTNER, 2008).

Segundo Lightner (1993), os víbrios são, em geral, bactérias de maior relevância na aquicultura, devido a sua capacidade de infectar organismos aquáticos, entre estes os camarões peneídeos. As bactérias do gênero *Vibrio* são gram-negativas, possuem forma de bastonetes curvos ou retos. Suas células podem chegar a medir 1 µm de largura e entre 2 e 3 µm de comprimento; quando móveis possuem no mínimo um flagelo polar, são mesófilas e anaeróbicas facultativas (FARMER; HICKMAN-BRENNER, 1992).

Os víbrios estão relacionados com infecções em todos os estágios do ciclo de vida dos camarões, entretanto os maiores impactos são mais comuns em larviculturas. Os surtos podem ocorrer quando os fatores ambientais funcionam como um gatilho, ocorrendo a rápida multiplicação das bactérias e estas por sua vez desencadeiam infecções nos organismos (ADAMS, 1991).

As infecções podem ocorrer de várias formas, podendo ser cuticular, oral, entérica afetando o intestino e sistêmica quando envolve vários órgãos. Quando localizada, apresenta lesões melanizadas na carapaça e (ou) abscessos pontuais no hepatopâncreas (LIGHTNER, 1996a).

Espécies de víbrio fazem parte da microflora natural de camarões selvagens e cultivados e causam infecções oportunistas quando os mecanismos de defesa natural estão reduzidos (BROCK; LIGHTNER, 1990). As infecções ocasionadas por víbrios são geralmente classificadas como secundárias, mas algumas espécies de alta virulência foram identificadas como responsáveis por infecções primárias (OWENS; MENDELIN-HALL, 1989; OWENS *et al.*, 1992b; LAVILLA-PITOGO *et al.*, 1990; DE LA PENA; KAKAI; MUROGA, 1995). Cepas patogênicas de *V. harveyi*, *V.*

vulnificus e *V. parahaemolyticus* causaram epidemias massivas na Tailândia (NASH *et al.*, 1992) e nas Filipinas (LAVILLA-PITOGO *et al.*, 1990). O *V. harveyi* causador da bioluminescência em camarões ocasiona a liberação de toxinas no meio e pode levar de 80-100% de mortalidade em larviculturas de *P. monodon* (LIU; LEE; CHEN, 1996; HARRIS, 1995).

A má qualidade de água, altas taxas de densidade de estocagem, alta temperatura da água, diminuição do oxigênio dissolvido, lesões na cutícula dos camarões, subalimentação e poucas renovações de água são alguns dos fatores que ocasionam estresse aos animais, tornando-os susceptíveis a infecções ocasionadas por vibrios (LEWIS, 1973; LIGHTNER; LEWIS, 1975; BROCK; LIGHTNER, 1990).

Os indivíduos portadores de vibriose podem apresentar lesões cuticulares típicas de doenças bacterianas; perda de membros; desorientação; hemolinfa turva com tempo de coagulação alterado; opacidade na musculatura; brânquias, cutículas e apêndices melanizados; anorexia e apatia; infecções no intestino e hepatopâncreas e septicemia em geral (LIGHTNER, 1993).

A vibriose, também conhecida como “síndrome da gaivota” e enterite séptica hemocítica, foi causa de grandes perdas para a indústria de camarão no México, talvez por desconhecimento das técnicas de diagnóstico e do tratamento adequado a esse problema. As espécies mais comuns associadas a essa doença são: *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*. Porém pelo menos mais 10 espécies patogênicas foram identificadas: *V. splendidus*, *V. anguillarum*, *V. campbelli*, *V. fischeri*, *V. damsella*, *V. pelagicus*, *V. orientalis*, *V. ordalii*, *V. mediterrani*, *V. logei* (PEREIRA; SANTOS, 2003; NASH *et al.*, 1992; LIU; LEE; CHEN, 1996; HARRIS, 1995; LAVILLA-PITOGO *et al.*, 1990)

Em larviculturas algumas espécies de vibrio têm sido associadas a elevadas taxas de mortalidades, tais como, *V. campbelli* em *Fenneropenaeus indicus*, *P. monodon*, e *P. semisulcatus* (HAMEED, 1995) e *V. harveyi* e *V. parahaemolyticus* em *P. monodon* e *L. vannamei* (KARUNASAGAR *et al.*, 1994; ALAPIDE; DUREZA, 1997; ROBERTSON *et al.*, 1998).

A presença de vibrios na hemolinfa é um fator preocupante, pois a doença já pode estar generalizada, uma vez que a hemolinfa deve ser se não estéril, pelo menos, pouco contaminada (LIGHTNER, 1977). Quando ocorre a invasão da

hemolinfa por bactérias, a saúde dos animais já está comprometida (GOMEZ-GIL *et al.*, 1998).

Para se diagnosticar as vibrioses podem ser utilizados alguns tipos de análises como: bacteriológicas, a fresco, histológica ou por meio de PCR (GESTEIRA, 2006). As análises bacteriológicas permitem quantificar as unidades formadoras de colônias (UFC) no hepatopâncreas em (UFC/g) e na hemolinfa em (UFC/ml), bem como a identificação das espécies infectantes. Na análise a fresco se observa atrofia do hepatopâncreas, devido ao desprendimento celular, células com núcleos hipertrofiados e coloração pálida. Por histopatologia com coloração por Hematoxilina e Eosina (H&E) se observa hipertrofia dos túbulos, desprendimento celular, atrofia dos túbulos, infiltração de hemócitos e formação de nódulos hemocíticos com presença de colônias de bactérias (PANTOJA; LIGHTNER, 2008).

➤ **NHP (Hepatopancreatite Necrosante)**

A hepatopancreatite necrosante foi detectada pela primeira vez em fazendas camaroneiras no Estado do Texas (EUA) no ano de 1985, onde os camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* exibiam sinais clínicos característicos e mortalidade variando de 20% a 95%. Inicialmente a NHP foi denominada de Hepatopâncreas granulomatoso (JOHNSON 1990). A bactéria causadora da enfermidade é uma α -proteobactéria, intracelular obrigatória, pleomórfica, gram-negativa do tipo Rickettsia, de 0,36 μ m de diâmetro, que ataca as células epiteliais dos túbulos do hepatopâncreas (KROL; HAWKINS; OVERSTREET, 1991, FRELIER *et al.* 1992; LIGHTNER; REDMAN, 1992).

Segundo Pantoja e Lightner (2003), esta enfermidade foi diagnosticada em vários países do hemisfério ocidental, como: Estados Unidos, México, Panamá, Belize, Guatemala, Colômbia, Equador, Nicarágua, Costa Rica, Peru, Venezuela e Brasil, provocando mortalidades entre 20 e 95% nos cultivos das espécies *L. vannamei* e *L. stylirostris*. Em Tumbes no Peru ocorreram mortalidades entre 70 e 90%. O primeiro caso reportado de NHP no México foi no ano de 1999, em fazendas na região de Sonora onde no verão a salinidade e temperatura estavam acima de 45 ups e 34°C, respectivamente (RÍO-RODRÍGUEZ, *et al.* 2006). No Brasil, os esforços

para o diagnóstico e tratamento têm sido postos em prática desde 1996, sendo a NHP uma enfermidade de importância econômica (BUCHELI *et al.*, 2004).

Os camarões infectados apresentam sinais clínicos caracterizados por anorexia, letargia, atrofia muscular abdominal, amolecimento do exoesqueleto e do corpo, crescimento retardado, redução do consumo alimentar, trato digestório vazio, cutícula frouxa, brânquias escurecidas, hepatopâncreas atrofiado e pálido (LIGHTNER, REDMAN, 1998). Estes sinais clínicos, também são característicos de outras enfermidades, portanto se faz necessária a utilização de um método de diagnóstico confirmatório como a histopatologia (GESTEIRA, 2006).

A transmissão de NHP ocorre de forma horizontal através da água e fezes contaminada e via canibalismo ("per os"). No México esta enfermidade manifestou-se associada com parâmetros ambientais tais como, temperatura entre 29 e 35°C e salinidade entre 20 e 40ups (FRELIER *et al.*, 1992).

O diagnóstico pode ser realizado através de análises presuntivas onde se observa estrangulamento e atrofia dos túbulos hepatopancreáticos, coloração pálida, desprendimento celular e melanizações. Esta análise pode ser realizada quando da ocorrência de mortalidade anormal e a presença de sinais clínicos é notada (LIGHTNER, 1996a).

Segundo Pantoja e Lightner (2008), em análise histopatológica com a utilização da coloração Hematoxilina e Eosina (H&E) pode - se classificar a infecção de NHP em três estágios: inicial, aguda e crônica. A inicial - caracteriza-se por uma moderada atrofia nos túbulos do hepatopâncreas e desprendimento celular. Na fase aguda – observa-se uma severa atrofia dos túbulos do hepatopâncreas, poucos túbulos necróticos, formação de granulomas multifocais dentro do hepatopâncreas e em alguns casos as células epiteliais dentro dos granulomas ficam hipertrofiadas devido estas conterem colônias de bactérias dentro do citoplasma, poucos vacúolos de lipídeos (células R) e células secretoras (células B). A fase crônica – é caracterizada por conter numerosos túbulos hepatopancreáticos necróticos dispersos, com ausência de epitélio intacto e descamação das células epiteliais, densa infiltração hemocítica, melanização e fibrose.

Outras formas de diagnóstico são a hibridização *in situ* e dot blot utilizando sondas de cDNA específicas para NHP segundo Loy; Frelier; Varner (1996), e PCR utilizando métodos descritos por Loy e Frelier (1996).

3.3.3. Enfermidades de Menor Impacto

➤ Parasitas (endoparasitas, epicomensais)

Um parasita pode ser considerado como todo e qualquer organismo vegetal ou animal que vive à custa de outro de diferente espécie, alimentando-se das substâncias que este consome ou desenvolve, podendo ou não prejudicá-lo sem chegar necessariamente a morte do hospedeiro. Os parasitas se classificam em endoparasitas e ectoparasitas (CUÉLLAR- ANJEL, 2008).

Segundo Lightner (1996b), os principais organismos parasitas em camarões peneídeos são as gregarinas que são endoparasitas e organismos epicomensais como protozoários, algas e bactérias filamentosas, microsporídios, haplosporídios e metazoários.

As gregarinas são protozoários do filo Apicomplexa, composto por parasitas obrigatórios. Nos camarões o ciclo de vida se inicia com a ingestão de um hospedeiro intermediário contendo esporos de gregarina. Os esporos ingeridos se transformam em esporozoítos e se aderem às paredes do filtro gástrico, após a adesão se transformam em trofozoítos, podendo gerar pelo menos três trofontes. Os trofontes se separam do estômago ou intestino médio para converter-se em esporádio e passam ao intestino posterior alojando-se em suas pregas. De cada célula esporádio se desenvolve um gametocisto e algumas destas células irão se reproduzir formando gametas masculinos e femininos. Quando ocorre a ruptura do gametocisto os gametas se unem formando zigotos que são liberados para o meio externo. A partir de então os zigotos são consumidos por bivalves ou poliquetas e os camarões alimentando-se dos mesmos contaminam-se novamente (OMOTO, *et al.*, 2004).

A presença destes organismos em infestações severas causa descamação do epitélio, diminuindo a absorção do alimento, hiperplasia do epitélio do trato digestório mediano formando pregas e perfurações na mucosa, podendo proporcionar uma rota de entrada de *Vibrio spp.* (LIGHTNER, 1996a).

Em trabalho realizado por Lightner (1993) no Texas, foi demonstrado que o controle do *Nematopsis sp.* pode ser realizado de duas formas. Primeiramente foi

realizada a remoção de seu hospedeiro intermediário nos viveiros que no caso era o poliqueta *Polydora cirrhosa*, após esta remoção não houve mais detecção destes organismos no cultivo. Foi realizado também um tratamento com anti-coccídios que se mostrou igualmente eficaz.

Indivíduos infectados com este endoparasita apresentam coloração amarelada no intestino, redução do consumo alimentar e da taxa de crescimento. Este endoparasita pode causar grandes impactos nos cultivos, uma vez que na sua fixação no intestino do hospedeiro, os mesmos perfuram o epitélio criando uma porta de entrada para infecções secundárias que são causadas por bactérias. Outro impacto sobre a produção é redução do crescimento causada pelas infestações (BROCK, 1994).

O diagnóstico deste endoparasita pode ser realizado por análises a fresco do trato digestório dos animais, onde se observam esporozoitos, trofozoitos e gametocistos. Na histopatologia estes parasitas podem ser observados no trato digestório anterior, médio e posterior (PERKINS, 1991).

Os organismos epicomensais são comuns em sistemas de produção semi-intensivos, intensivos e super-intensivos, ou seja, quando há altas densidades populacionais (camarões/m²) associadas a uma baixa qualidade de água. A maioria destes organismos vive em estado livre na água, não sendo parasitas obrigatórios apenas utilizam o camarão como substrato para se aderir. Na maior parte dos casos não causa danos diretos ao organismo, causam apenas danos indiretos, pois estes se fixam nas brânquias dificultando as trocas gasosas, ou em outras partes do corpo dificultando a locomoção (FEIGENBAUM, 1975).

A presença destes organismos nos camarões se torna enfermidade quando eles afetam funções respiratórias, alimentares ou locomotoras. Protozoários dos gêneros *Zoothamnium* sp., *Epistylis* sp. ou *Vorticella* sp.; bactérias filamentosas *Flexibacter* sp. dentre outras e algas como *Schizothrix* spp. são alguns dos organismos que podem colonizar os camarões. Os indivíduos com alta colonização por epicomensais podem apresentar baixo crescimento, diminuição do consumo alimentar, natação irregular, baixa tolerância a quedas no oxigênio dissolvido, coloração das brânquias em tons de marrom. (LIGHTNER, 1996a).

Todos os estágios de vida podem ser afetados, entretanto a perda econômica mais grave acontece nos estágios de juvenil a adulto. Estes organismos são encontrados em qualquer região do mundo, onde se cultive camarões peneídeos e

seu diagnóstico pode ser realizado através de análises a fresco feitas na própria fazenda ou análises histopatológicas com coloração em H&E (MCVEY, 1993).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

Para a realização do estudo foram selecionadas quatro fazendas de cultivo de camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* em dois estuários do Estado do Ceará, sendo um em Aracati (Rio Jaguaribe) e outro em Acaraú (Rio Acaraú) (Figura 2).

O Rio Jaguaribe é o maior curso de água do território cearense com 610Km de extensão e sua bacia hidrográfica com cerca de 72.043 Km² drena as partes meridional e oriental do Estado, desaguando no Oceano Atlântico, no Município de Fortim no Canto da Barra, ponto de encontro entre o rio e o mar (ABREU, LACERDA; MARINS, 2003) .



Figura 2 – Localização geográfica das quatro fazendas em estudo objeto da presente pesquisa.

A região de Aracati está localizada na costa leste do Estado do Ceará, a 150 km de Fortaleza, capital de Estado. Segundo a Associação Cearense de Criadores de Camarão – ACCC (2009), a região de Aracati faz parte do pólo do Jaguaribe compreendendo 86 fazendas com uma área de 2.492,2 ha, representado 47,78% da área produtiva do Ceará. Nesta região foram selecionadas duas fazendas, uma com área total de 48 ha, onde foi escolhido um viveiro de 3 ha; e outra fazenda com área total de 250 ha, onde um viveiro de criação de 7 ha foi utilizado para a realização do estudo.

A bacia do Rio Acaraú está localizada a oeste da capital cearense e é considerada a segunda maior bacia hidrográfica do Ceará. Sua nascente se situa em Monsenhor Tabosa na Serra das Matas até desaguar no Oceano Atlântico em Acaraú, que fica a 248 km de Fortaleza. Sua bacia hidrográfica abrange um total de 27 municípios numa área de 14.500 Km² (ARAÚJO; FREIRE, 2007). O Pólo do Acaraú possui 32 fazendas com área de 1.238,0 ha, equivalente a 17% da área cultivada do Estado (ACCC, 2009). As fazendas selecionadas nesta região compreendiam área total de 240ha e 300ha, sendo selecionado um viveiro de criação de 3,2 ha e um de 4,8 ha respectivamente, para a realização do estudo.

4.2. Amostragem

A pesquisa foi realizada em duas estações do ano: estio e chuvosa, durante duas etapas do ciclo de cultivo, uma amostragem quando os camarões estavam com 4g e outra quando atingiam 8g.

Em cada amostragem foram capturados 80 camarões, 60 se destinavam a análise histopatológica e 20 para a realização da análise a fresco, que foi realizada na própria fazenda. O número amostral adotado para a análise histopatológica teve como base Lightner (1996a) e se fundamenta em uma prevalência presumida de 5% da enfermidade pesquisada em uma população >100.000 indivíduos (Tabela I). Os camarões foram capturados com o auxílio de uma tarrafa em diferentes pontos do viveiro.

Tabela I. Tamanho amostral baseado em uma estimativa de prevalência do patógeno em uma população de camarões (modificado a partir de Amos 1985).

Tamanho da população	Tamanho amostral requerido a uma prevalência estimada de:						
	2%	5%	10%	20%	30%	40%	50%
50	50	35	20	10	7	5	2
100	75	45	23	11	9	7	6
250	110	50	25	10	9	8	7
500	130	55	26	10	9	8	7
1.000	140	55	27	10	9	9	8
1.500	140	55	27	10	9	9	8
2.000	145	60	27	10	9	9	8
4.000	145	60	27	10	9	9	8
10.000	145	60	27	10	9	9	8
>/= 100.000	150	60	30	10	9	9	8

4.3. Análise a fresco (ou presuntiva)

A análise a fresco é a técnica empregada para monitorar o estado da saúde dos organismos, durante a realização de diagnósticos presuntivos realizados no laboratório ou em campo. Inicialmente foi realizada uma observação macroscópica para investigar a presença de rugosidades nas antenas, melanização no exoesqueleto e o aspecto do tecido muscular (translúcido ou opaco), este último como forma de investigação da ocorrência do IMNV, que posteriormente seria confirmada através de outras técnicas de diagnóstico. A seguir os indivíduos foram pesados, feita a retirada da hemolinfa, depositada em uma lâmina e cronometrado o tempo de coagulação. O tempo de coagulação da hemolinfa pode ser alterado devido à ação de fatores externos como mudanças na temperatura, salinidade e poluentes, ou resultante de infecções (LE MOULLAC; HAFFNER, 2000; LEE; CHEN; LIU, 1999). Em uma etapa posterior, foi feita a dissecação do camarão "in vivo" observando - se possíveis alterações nos órgãos e tecidos, quando foram retirados fragmentos de brânquias, hepatopâncreas, intestino, músculos e exoesqueleto,

sendo então levados ao microscópio de luz para estudo. A análise das brânquias permite detectar organismos epicomensais, bem como substâncias inorgânicas aderidas a estas estruturas. No hepatopâncreas, foi visualizada a forma dos túbulos, que pode indicar a ocorrência de enfermidades bacterianas e a presença de lipídeos que sugerem o estado nutricional do animal. No trato digestório foi investigada a existência de Gregarinas e índice de repleção, ou seja, a quantidade de alimento presente. No exoesqueleto verificou-se a existência de deposição de calcário, sintoma comum aos portadores do WSSV. Para análise de brânquias, hepatopâncreas, trato digestório e exoesqueleto foi adotado um score que variou de 0 a 4, de acordo com Lightner (1996a), conforme tabela abaixo:

Tabela II – Classificação quantitativa do grau de severidade da infecção, infestação, enfermidade e síndrome, segundo Lightner, 1996.

Grau de Severidade	Sinais Clínicos
0	Não apresenta sinais de infecção por patógenos, parasitas ou epicomensais. Não apresentam lesões características de síndrome.
1	Presença baixa de patógenos, parasitas ou epicomensais. Quantidade acima do padrão de limite normal (quando existe). São observadas poucas lesões características da síndrome.
2	É observada a presença em pequena e moderada quantidade de patógenos, parasitas ou epicomensais. São observadas muitas lesões características da síndrome. Aumento da mortalidade se não existe um tratamento (quando existe).

3	É observada presença de moderada quantidade de patógenos, parasitas ou epicomensais. Observam-se muitas lesões características da síndrome. Potencialmente letal se não se aplica tratamento (quando existe).
4	São observadas grande quantidade de patógenos, parasitas ou epicomensais. São observadas severas lesões causadas pela síndrome. Letal, apresentando alta mortalidade.

Valores de 1 a 4 foram arbitrados para calcular as gotas de gorduras no hepatopâncreas: menor ou igual 1- baixo; menor ou igual a 2 – regular; menor ou igual a 3 - bom e menor ou igual a 4- ótimo.

4.4. Análise histopatológica

Os camarões amostrados para a análise histológica foram fixados e imersos em solução de Davidson (AFA's). Após 24h, as amostras foram lavadas em água corrente e transferidas para álcool 70% para posterior processamento histológico (BELL; LIGHTNER, 1988). Cortes de 4µm foram corados pelo método de Hematoxilina e Eosina (H&E) (TOLOSA, *et al.* 2003) e a seguir analisados em microscópico de luz. A detecção de enfermidades foi baseada na literatura clássica de patologia de crustáceos (BROCK; LIGHTNER, 1990; LIGHTNER, 1996a; PANTOJA; LIGHTNER, 2008; PEREIRA; MENDES; GESTEIRA, 2008).

4.5. Análise dos dados

Ao final de cada ciclo de cultivo foram cedidos pelos produtores, os dados dos parâmetros ambientais (salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido e pH) mensurados durante o cultivo, bem como os índices zootécnicos (FCA, produção, produtividade, densidade m² e sobrevivência).

Para validação dos dados das análises histopatológicas foi utilizado o teste estatístico Qui-quadrado (χ^2), considerando-se as seguintes hipóteses de nulidade: as estações climáticas de chuva e de estio, e o peso do camarão (4 g e 8 g) não exercem nenhuma influência sobre a capacidade dos camarões serem infectados por enfermidades, ou seja, as frequências observadas não diferem estatisticamente das frequências esperadas da incidência das enfermidades. Com este objetivo cada fazenda foi considerada como repetição dos tratamentos. Desta forma foi tomado o n amostral total em relação ao número de vezes que a enfermidade foi detectada, considerando em separado os indivíduos de 4 e 8g e os períodos do ano (seco ou chuvoso).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo realizou-se durante o período chuvoso e de estio nos meses de maio a dezembro do ano de 2008. Um total de 900 indivíduos foi amostrado para histopatologia e 300 pela análise a fresco, uma vez que a amostragem de 8g na Fazenda B (no período de estiagem) não pode ser efetuada, pois o viveiro em estudo foi despescado por motivos administrativos. No final foram geradas 1.800 lâminas para o estudo histopatológico e amostrados 300 indivíduos para análise a fresco.

5.1. Análise a fresco (ou presuntiva)

Os resultados dos exames a fresco demonstraram haver a presença de organismos epicomensais, endoparasitas como gregarinas, presença de túbulos deformados e camarões com tamanhos pouco uniformes.

De acordo com os dados fornecidos pelos técnicos das fazendas o peso médio final dos indivíduos associado ao tempo de cultivo mantiveram-se dentro das expectativas nas fazendas A, B e C, mas na Fazenda D no período de estio os animais apresentaram uma redução no crescimento prejudicando a produção. Este aspecto levantou a suspeita da ocorrência do Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética – IHNV, devido à presença de grande variação de tamanho e consequentemente de peso nos animais (Figura 3), além de sintomas externos de RDS típicos deste vírus em camarões da espécie *Litopenaeus vannamei*. Esta suspeita foi posteriormente comprovada com a utilização de análise histopatológica.

Dentre os itens analisados o único que não teve relação com a presença ou ausência de enfermidades e parasitas foi o tempo de coagulação, que mostrou-se sempre abaixo de 13 segundos, tempo este considerado baixo na avaliação do estado de saúde dos camarões (LE MOULLAC; HAFFNER, 2000; LEE; CHEN; LIU, 1999).



Figura 3 – Foto evidenciando a presença de camarões com tamanhos diferenciados entre 8 e 15 cm, amostrados no viveiro de cultivo em estudo da Fazenda D, durante o período de estiagem

5.1.1. Hepatopâncreas

As análises de fragmentos de hepatopâncreas coletados nas fazendas A, B e C mostraram deformidades nos túbulos com graus médios de severidade 1,3 a 1,8, em uma escala que vai de 0 a 4 (LIGHTNER,1996a), em ambos os períodos de estudo (Figura 4 B). Observando-se as mesmas fazendas na demonstração gráfica se verifica que a presença de deformidades diminui na amostragem com camarões de 8g, no período chuvoso (com exceção para a Fazenda D), ocorrendo o contrário para o período de estio, quando a incidência aumenta em indivíduos de 8g (Figura 5).



Figura 4 – A – Fotomicrografia mostrando túbulos do hepatopâncreas (T) bem formados; B – Detalhe de estrangulamentos na região apical nos túbulos (seta). Fotomicrografias realizadas em exames a fresco. Escala 200 µm.

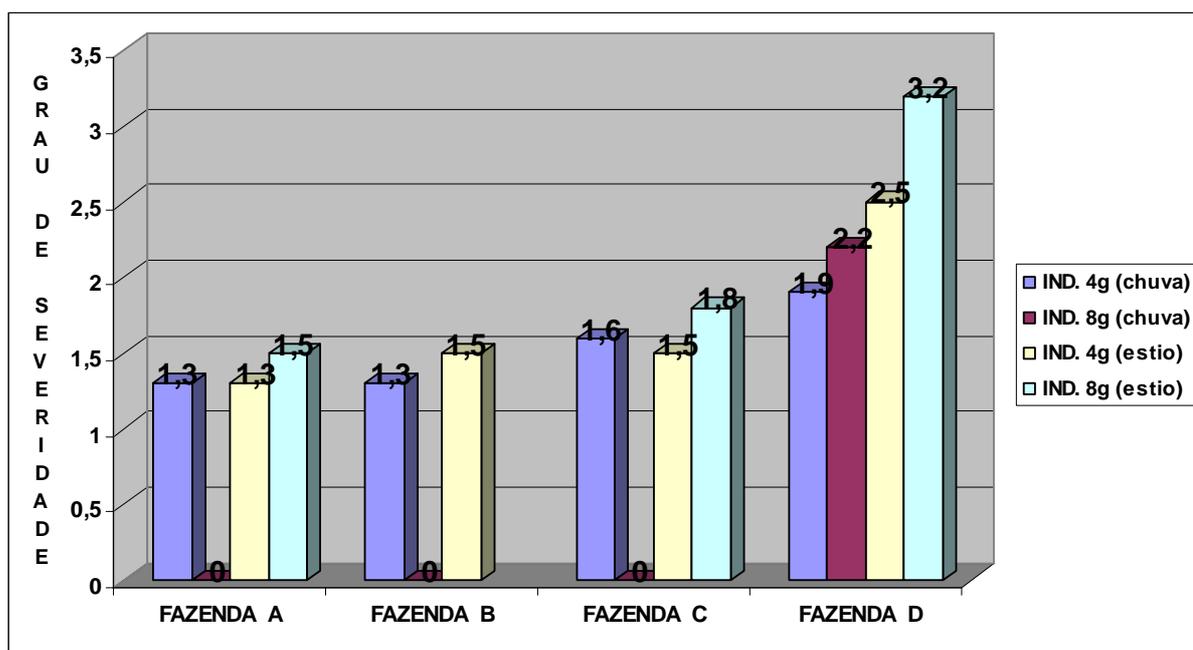


Figura 5 – Representação gráfica demonstrando a deformação dos túbulos do hepatopâncreas dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio.

Neste mesmo órgão, também foi analisada a presença de gotas de gordura e verificou-se nos camarões das fazendas A, B e C, índices sempre acima de 2,5, com base em valores que variaram de 1 a 4. A presença de gotas de gordura indica um bom estado nutricional do animal (Figura 6).

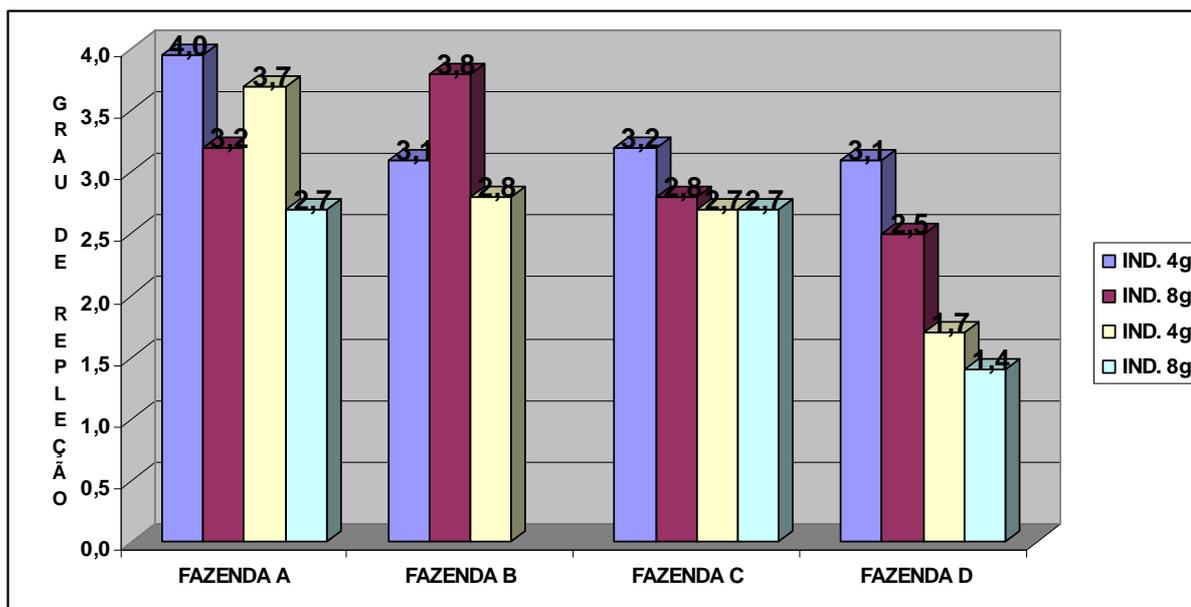


Figura 6 – Representação gráfica da presença de gotas de gordura no hepatopâncreas dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem.

A Fazenda D foi a que apresentou maiores índices de deformidades nos túbulos do hepatopâncreas e menor presença de gotas de gordura em ambos os períodos de estudo. Os índices de deformidade apresentados nos túbulos coletados no período chuvoso foi de 1,9 a 2,2 e no período de estio de 2,5 a 3,2. A presença de gotas de gordura também foi observada e tiveram índices de 2,5 a 3,1 para o período de chuva e de 1,4 a 1,7 para o período de estio.

Dentre as análises de fragmentos de hepatopâncreas realizadas no presente estudo, os resultados obtidos da Fazenda D foi o que apresentou maiores indícios da presença de uma enfermidade bacteriana, devido à ocorrência de muitos túbulos deformados e melanizados e com baixa presença de gotas de gordura. Segundo Morales-Covarrubias 2008, a Hepatopancreatite Necrosante (NHP) pode ser detectada com a utilização de análises a fresco, necessitando posteriormente de um método de diagnóstico confirmatório, como por exemplo o histopatológico.

5.1.2. Brânquias

Organismos epicomensais como *Epistylis sp.* e *Zoothamnium sp.* (Figura 7), e materiais inorgânicos foram detectados nas análises de fragmentos branquiais dos indivíduos selecionados.

Nas fazendas A, B e C, a incidência de epicomensais manteve-se praticamente constantes para os dois períodos de estudo, variando de 1,3 a 1,9. No entanto, na Fazenda D, nas amostragens do período de estio, os índices variaram de 2,6 a 3,5 (Figura 8). A presença destes epicomensais se deve a baixa qualidade de água do ambiente de cultivo, favorecendo a proliferação e colonização dos hospedeiros, podendo em grande quantidade afetar as trocas gasosas e/ou sua locomoção (CUÉLLAR-ANJEL, 2008). Ao avaliarmos a presença destes organismos juntamente com a análise de fragmentos do hepatopâncreas, nota-se que há uma relação entre a presença de uma enfermidade primária, que no caso foi diagnosticado NHP e a alta incidência de epicomensais. Segundo GUZMÁN; VALLE, (2000), quando os camarões estão mais debilitados, eles se tornam mais vulneráveis à colonização por estes organismos. Não foi verificada relação da incidência destes organismos com a época do ano como pode ser observado graficamente (Figura 8).

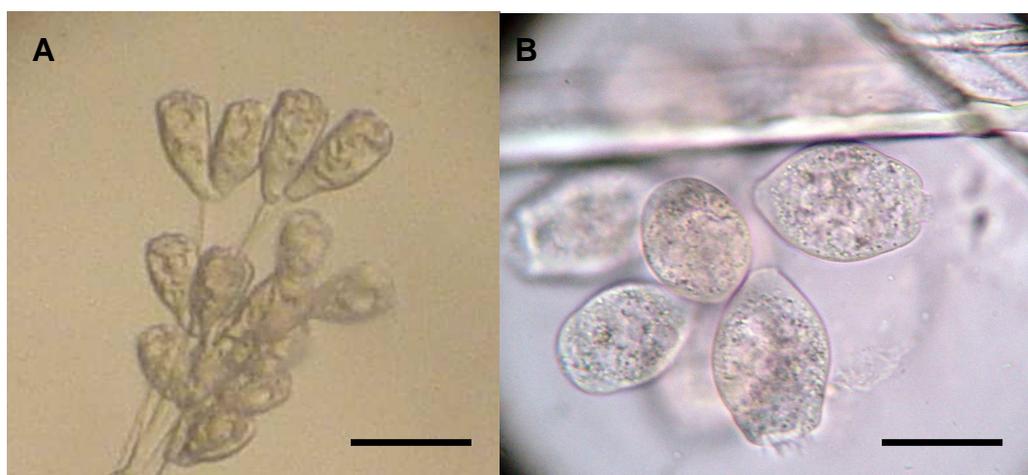


Figura 7 – A - *Zoothamnium sp.*; B - *Epistylis sp.* observados em análises a fresco das brânquias de camarões provenientes das fazendas em estudo. Escala 200 μ m.

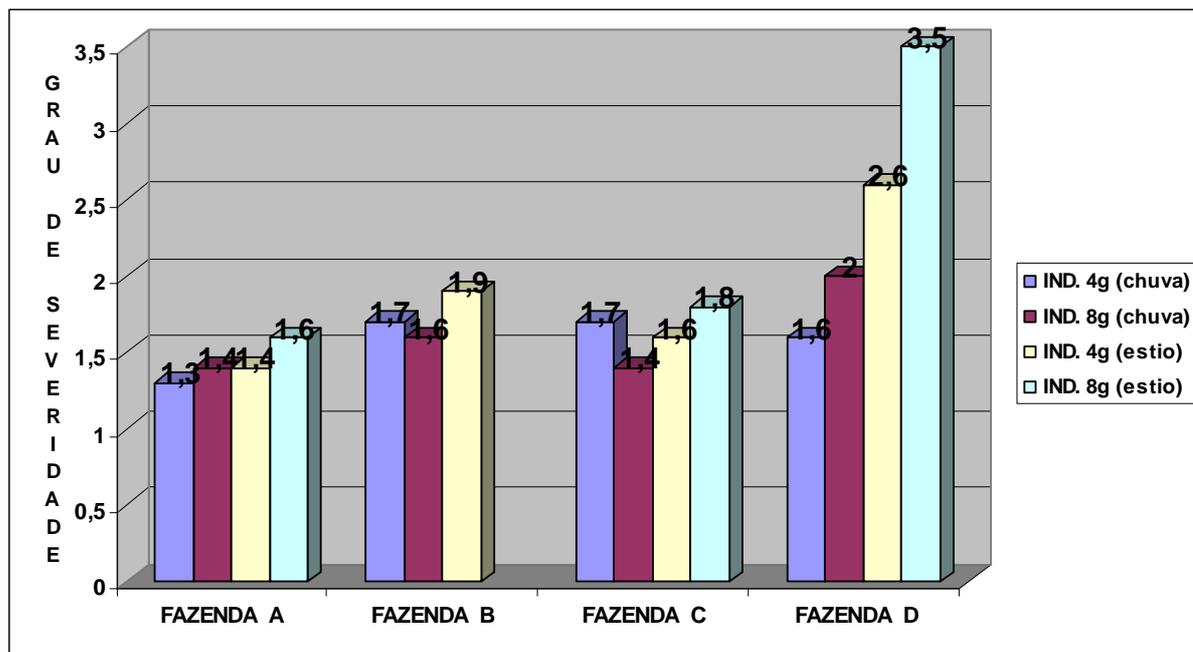


Figura 8 – Representação gráfica demonstrando a presença de organismos epicomensais nas brânquias dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio.

5.1.3. Trato digestório

Analises realizadas no trato digestório dos animais detectaram em seu conteúdo a presença do endoparasita gregarina provavelmente *Nematopsis sp.* (Figura 9). Observando-se graficamente a presença deste endoparasita nos dois períodos de estudo verifica-se que sua maior incidência está relacionada ao período de chuva com índices de 1,3 a 2,3, com exceção para a Fazenda B, diferentemente dos resultados encontrados por Saavedra-Bucheli, Alvarez-Leon e Rey-Carrasco (2008), que verificaram uma forte sensibilidade das gregarinas a variações ambientais, que ocorrem nos períodos chuvosos como a salinidade. De acordo com Brock 1994, este endoparasita pode causar impactos negativos aos cultivos, tendo em vista que o mesmo se fixa no trato digestório, causando a descamação do epitélio e diminuindo assim a absorção do alimento. Corroborando este autor, a Fazenda D foi a que demorou mais tempo para que os animais atingissem o peso de 8g, no período de chuva e foi a que obteve maior incidência do endoparasita com índices de 0,6 a 2,3 (Figura 10).

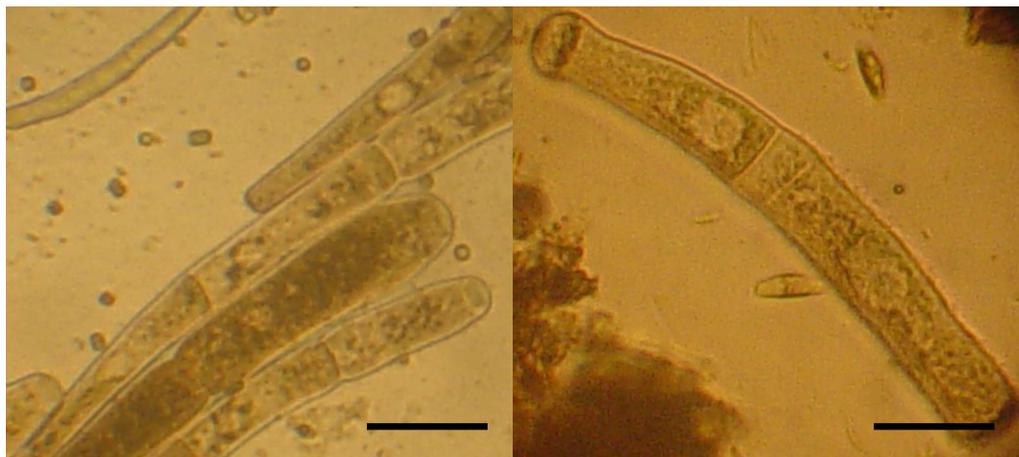


Figura 9 – Foto de esporozoítos de gregarinas detectados em análise a fresco de camarões coletados nas fazendas em estudo. Escala 200µm.

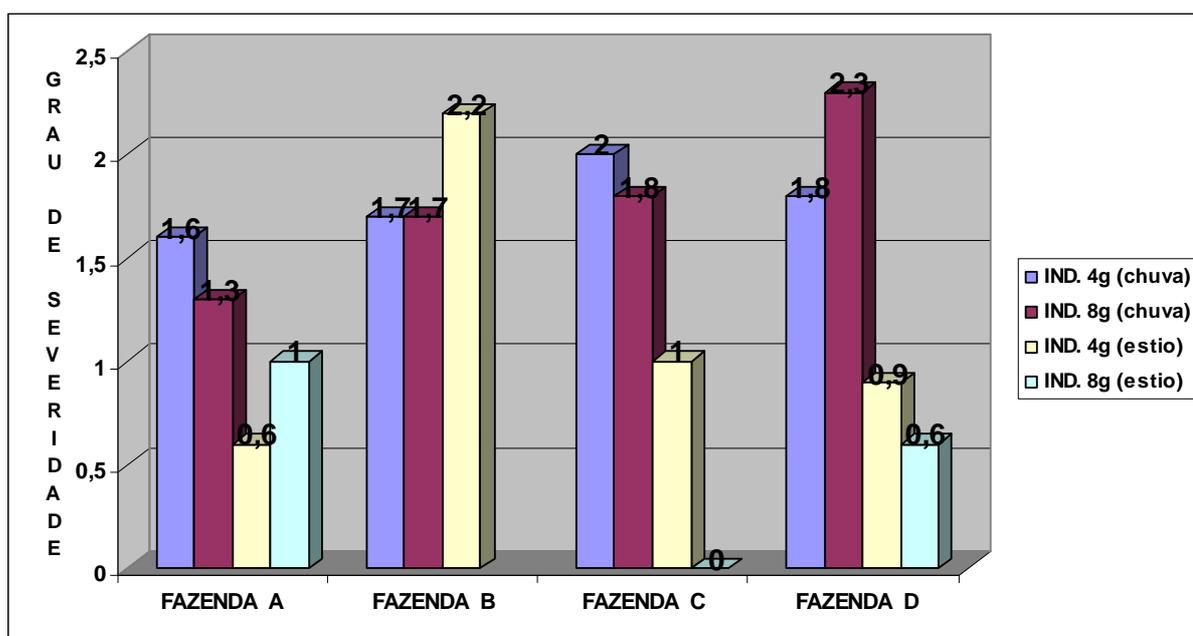


Figura 10 – Representação gráfica demonstrando a presença de gregarinas no conteúdo do trato digestório dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas, durante os períodos de chuva e de estio.

5.2. Análise histopatológica

As análises histopatológicas dos camarões amostrados nas 4 fazendas investigadas detectaram a presença de enfermidades de etiologia bacteriana:

vibriose e Hepatopancreatite Necrosante (NHP), enfermidades de etiologia viral: Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV) e Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV), além da presença de parasitas como epicomensais e endoparasitas (Tabela III). Abaixo também pode ser observado a aplicação do teste estatístico Qui-quadrado

Tabela III - Frequência absoluta de indivíduos diagnosticados com diferentes patologias.

Infecção	Número de indivíduos infectados			
	período		peso da amostra	
	chuva	estio	4 g	8 g
IMNV	109	48	62	95
IHHNV	45	86	52	79
Vibriose	130	157	143	116
Necrose subcuticular	202	124	171	155
Gregarina	161	49	144	66
Fouling	81	64	76	69

5.2.1. Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV)

A presença desta enfermidade foi detectada em todas as amostragens, durante o período de chuva e de estio. Quando a enfermidade surgiu no Estado do Piauí, em 2002, afetando o setor produtivo ao longo dos anos de 2003 e 2004, foi então realizado um amplo estudo pela Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), e os resultados encontrados neste estudo demonstraram que o desequilíbrio ambiental causado pelos os altos índices pluviométricos nas zonas afetadas dos Estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte contribuíram para a manifestação da enfermidade. No entanto, o estudo realizado pela Rede de Carcinicultura do Nordeste – RECARCINE detectou que a enfermidade tinha maior

incidência no período de estio, devido principalmente às altas taxas de salinidades observadas nos cultivos monitorados e a presença de floração de cianobactérias. Vale ressaltar que a primeira ocorrência da enfermidade se deu no final do ano de 2002, ou seja, no período de estio.

Porém, os dados provenientes do atual estudo demonstraram que o período de maior incidência do IMNV esteve relacionado com a quadra chuvosa com elevada significância estatística ($\chi^2 = 23,70$; $p < 0,01$), e com relação ao peso individual, maior incidência em camarões com 8g, com elevada significância estatística ($\chi^2 = 6,94$; $p < 0,01$).

Provavelmente devido à presença do vírus no ambiente de cultivo, a mesma se manifestou quando ocorreram maiores variações dos parâmetros ambientais. Segundo Hernández e Nunes (2001), o sistema de produção é constituído por uma cadeia de elos interligados: o camarão, o ambiente de cultivo e os patógenos. Portanto, o fortalecimento e a estabilidade do sistema de produção dependem do desempenho de cada um dos elos que compõe esta cadeia. Geralmente, em condições de estresse, essa cadeia é quebrada, o que é habitualmente referido pelos epidemiologistas como o fator iniciante da doença em cultivos animais (THOMPSON; FRELIER; LAWRENCE, 1994; LE MOULLAC; HAFFNER, 2000).

A Fazenda A foi a que teve menor incidência de IMNV no período de chuva e a Fazenda C no período de estio. As fazendas B, C e D tiveram suas incidências no período de chuva entre 15,0 e 33,0% (Figura 11).

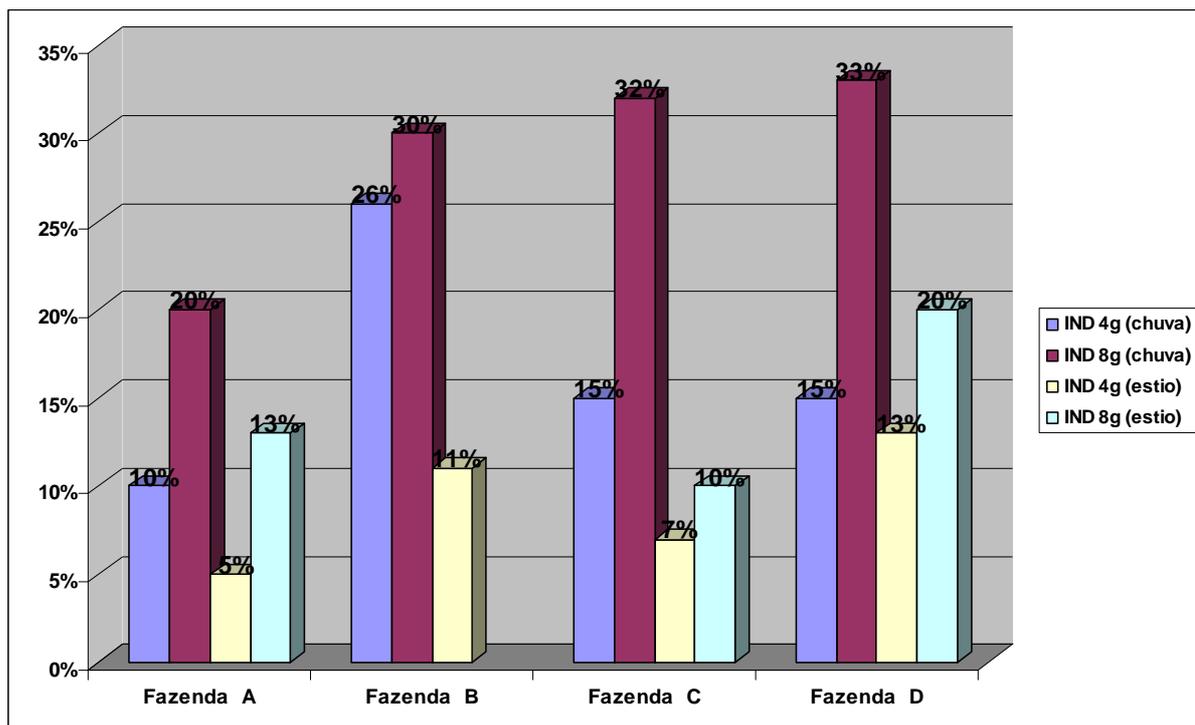


Figura 11 – Representação gráfica demonstrando o percentual de IMNV dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem.

A Figura 12A mostra o tecido muscular com aspectos normais podendo ser observado a presença de núcleos e fibras justapostas. As lesões histopatológicas encontradas podem ser classificadas em três fases de acordo com Pereira, Mendes e Gesteira (2008). A fase inicial caracteriza-se por pequenos focos de opacidade muscular nos últimos segmentos abdominais e uma leve infiltração hemocítica (Figura 12 B). A fase aguda se caracteriza pela observância de necrose muscular de coagulação nas fibras musculares com a presença de edemas e presença de esferóides ectópicos do órgão linfóide – EOL (Figura 13A). Na fase crônica da infecção verifica-se a necrose de liquefação acompanhada de grandes infiltrações hemocíticas e fibrose e presença de esferóides do órgão linfóide – LOS (Figura 13B).

Apesar da incidência desta enfermidade ter alcançado índices de até 33% não foram relatadas mortalidades elevadas, nem com sintomatologia compatível com a enfermidade (como opacidade muscular), durante o andamento dos cultivos, levando a crer que os animais mesmo portadores da enfermidade atingiram a sobrevivência dentro do esperado para os produtores. De acordo com Tsai *et al.*

(1999) um vírus que foi tido inicialmente como altamente patogênico pode sofrer mutações e se tornar menos agressivo, aumentando, portanto, a sobrevivência dos animais cultivados.

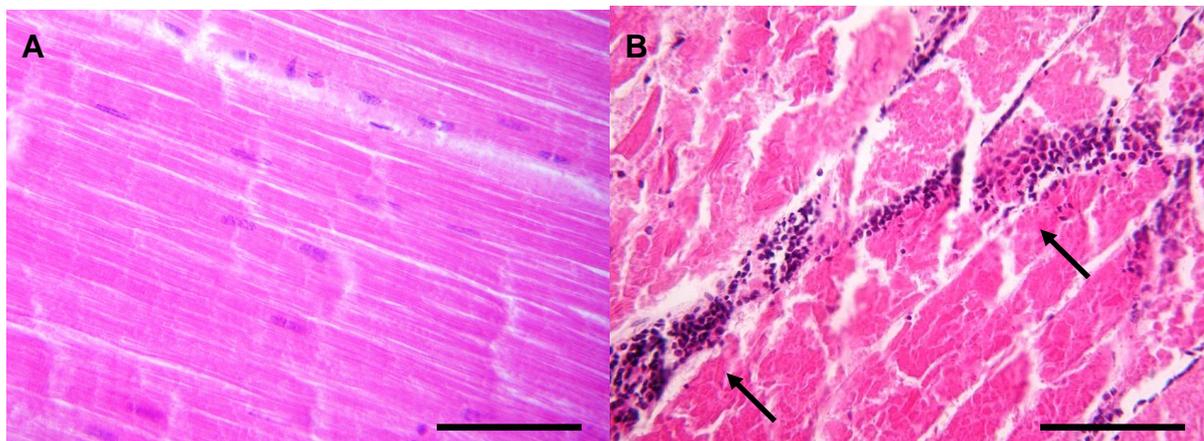


Figura 12 – A – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando tecido muscular bem preservado; B – Fotomicrografia de secção histológica transversal demonstrando lesão causada por IMNV em fase inicial da infecção (seta), Fonte: Feijó, R. G. Escala 50µm.

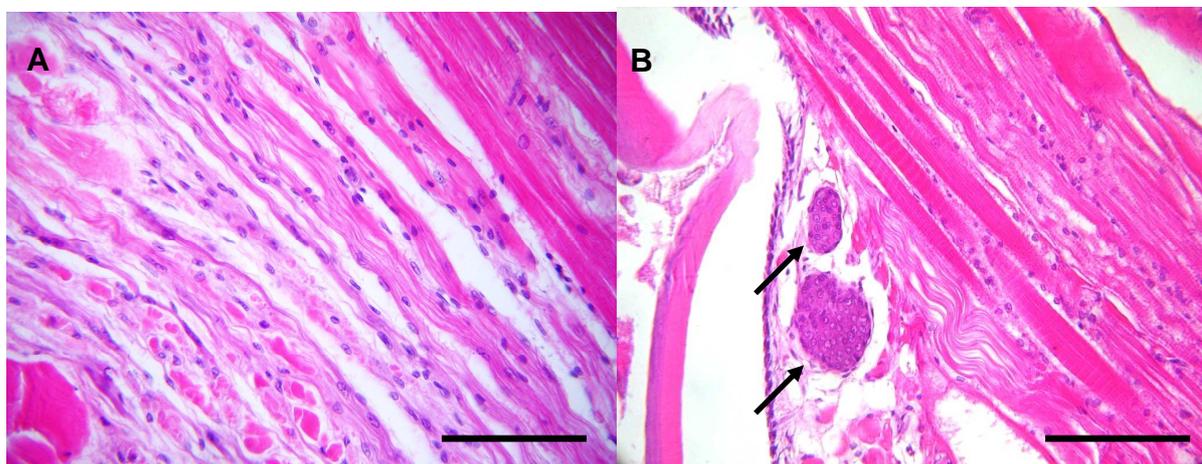


Figura 13 – A- Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do tecido muscular evidenciando lesão por IMNV na fase aguda da infecção; B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal no mesmo tecido demonstrando a fase crônica da infecção por IMNV com fibrose e presença de LOS (setas) Escala 50µm.

5.2.2. Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV)

O vírus da infecção hipodermal e necrose hematopoiética foi diagnosticado em 14 das 15 amostragens, não sendo diagnosticada apenas na segunda amostragem do período de chuva. O nível de variação da incidência de IHHNV foi de 3,0 a 36,0 %, com maior percentual da enfermidade para a Fazenda D, no período de estio (Figura 14). Vale salientar que este diagnóstico foi feito, quando da realização da análise a fresco. O IHHNV teve um maior percentual de incidência no período de estio. Para o Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV) sua maior incidência foi durante a estação de estio, com elevada significância estatística ($\chi^2 = 12,83$; $p < 0,01$), e em relação ao peso individual a maior incidência foi em camarões com 8g, com mediana significância estatística ($\chi^2 = 5,65$; $p < 0,05$).

Esta enfermidade é considerada endêmica para a espécie *L. vannamei* e sua transmissão pode ocorrer de forma vertical e horizontal. Os maiores percentuais de ocorrência observados na Fazenda A no período de estio, levam a crer que este registro pode estar relacionado com a aquisição de pós-larvas, já que no Estado do Ceará as larviculturas não apresentam certificação das PI's comercializadas. Uma vez que o impacto produzido pela presença desta enfermidade em camarões da espécie *L. vannamei* não é ocasionado por mortalidades e sim pela fase crônica da enfermidade, quando os camarões exibem a síndrome do nanismo - RDS, o valor do produto é depreciado, ocorrendo então o impacto cumulativo ao final do ciclo de cultivo da fazenda.

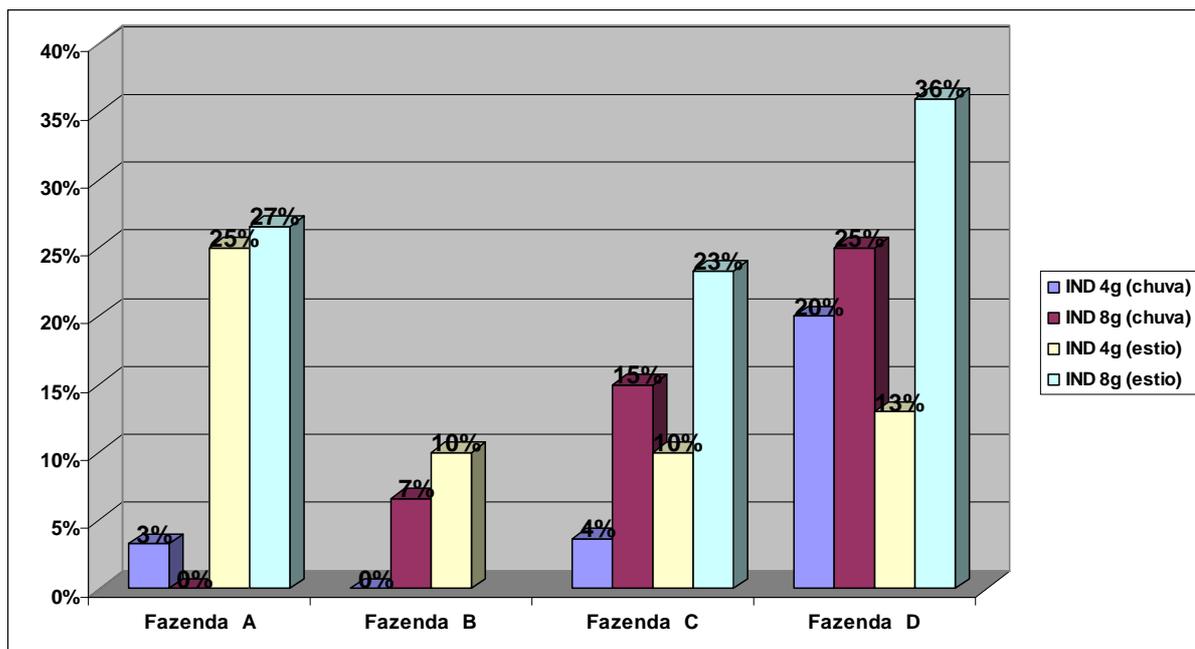


Figura 14 – Representação gráfica demonstrando o percentual de IHHNV dos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estiagem.

Os aspectos histopatológicos desta enfermidade caracteriza-se pela presença de corpos de inclusão intranucleares do tipo *Cowdrey* "A" (CAI's) (BROCK; LIGHTNER; BELL, 1983; BELL; LIGHTNER, 1984), sendo identificados nesta pesquisa principalmente nas brânquias e com menor incidência no tecido epitelial do estômago dos animais investigados (Figura 15).

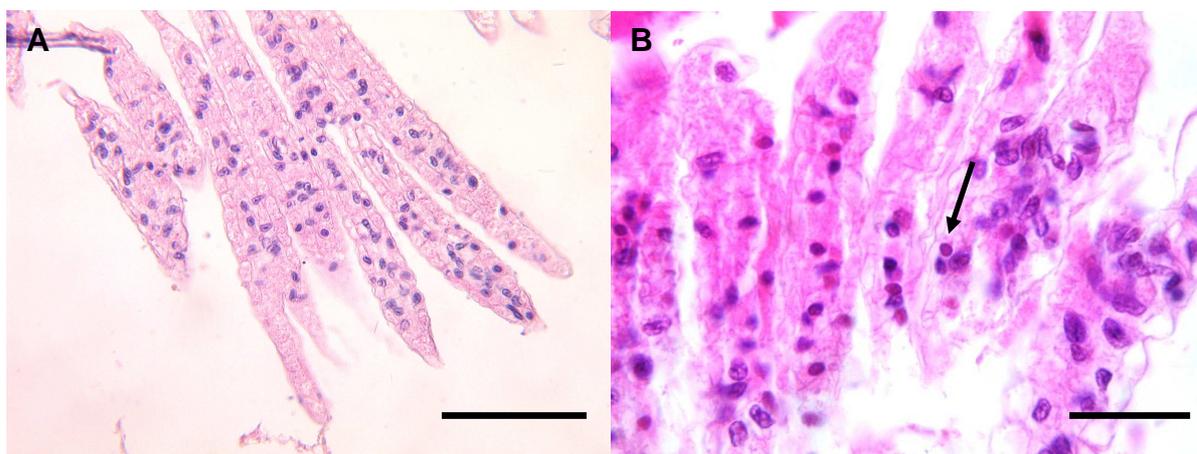


Figura 15 – A- Fotomicrografia de secção histológica longitudinal evidenciando brânquias com características normais, Escala 100 µm. B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando corpos de inclusão intranucleares do tipo *Cowdrey* "A" (seta) nas lamelas branquiais, Escala 10 µm.

5.2.3. Vibriose

A presença de vibriose foi constatada em todas as fazendas analisadas obtendo-se índices de infecção de 10,0 a 55,0% e sua incidência foi estatisticamente igual para os dois períodos de estudo com ($\chi^2 = 2,54$; $p > 0,05$) e com relação ao peso individual, maior incidência em camarões com 4 g, com mediana significância estatística ($\chi^2 = 5,27$; $p < 0,05$).

No entanto a Fazenda B, que atingiu os maiores valores de incidência no período de chuva de 55,0 a 42,0%, foi a fazenda em que se obteve a menor sobrevivência com 59%, e a menor produtividade por hectare com 783 kg (Figura 16). De acordo com De La Pena 1993, enfermidades provocadas por víbrios, geralmente originam infecções secundárias, entretanto, espécies de alta patogenicidade são capazes de causar infecções primárias.

Apesar do diagnóstico de consideráveis índices de vibrioses nos indivíduos estudados, principalmente nos amostrados na Fazenda B, não foram observadas altas mortalidades características de infecções primárias ou secundárias por este patógeno.

Análises microbiológicas da água e do sedimento dos viveiros do atual estudo, realizado por Rocha (2008) mostraram que o maior número de víbrios isolados foi das fazendas da região de Aracati com 22 cepas, sendo os valores de isolados da água superiores aos do sedimento. A fazenda B apresentou o maior número de isolados (12 cepas), seguida das fazendas C e A (10 cepas cada) e fazenda D (4 cepas). Os valores obtidos na Contagem Padrão em Placas (CPP) para os dois estuários em estudo foram considerados baixos de acordo com os valores encontrados por Martins (2003) em estudo similar.

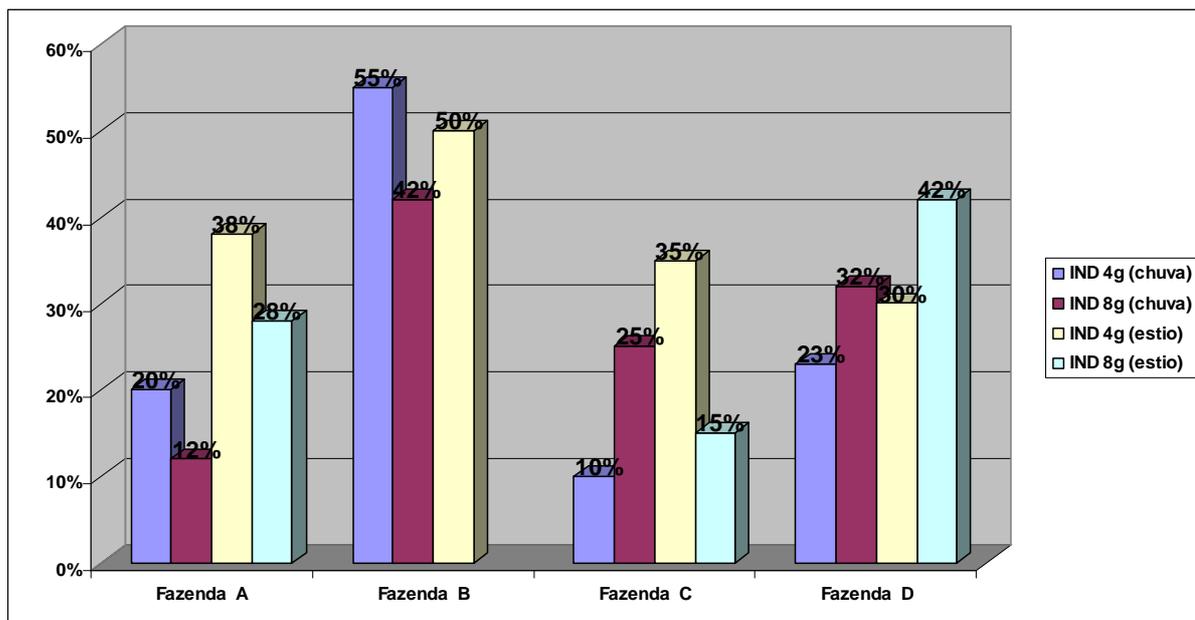


Figura 16 – Representação gráfica demonstrando o percentual de vibriose nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e de estio.

Segundo Boyd (1999), a manutenção dos níveis ideais de qualidade da água é de extrema importância para evitar o aparecimento de doenças nos animais em cultivo, sendo um fator determinante para a sobrevivência e crescimento dos camarões cultivados. Alterações histológicas causadas por vibrios foram observadas nas brânquias e hepatopâncreas nos animais da presente pesquisa.

Os dados apresentados na Figura 17 mostram que a maior incidência de vibrio foi durante a estação de chuva, com elevada significância estatística ($\chi^2 = 18,66$; $p < 0,01$); e com relação ao peso individual, não houve diferença estatística quanto a incidência da enfermidade, em camarões com 4 g e 8 g ($\chi^2 = 0,79$; $p > 0,05$).

O maior índice de necrose do epitélio subcuticular foi observado na Fazenda D no período de chuva (30 a 58%), no entanto este cultivo obteve bons índices de sobrevivência com 93,3% e produtividade com 2.296kg/ha (Figura 17). Esses bons resultados foram obtidos possivelmente devido a despesca com animais de peso médio de 7,9g, sendo então detectado a infecção em seu estágio inicial.

Foram diagnosticadas, em indivíduos coletados nas fazendas estudadas, alterações no epitélio subcuticular, provavelmente de etiologia bacteriana, pois os

indivíduos não exibiam características compatíveis com outras enfermidades que atingem este tecido como a Síndrome de Taura (TSV). (Figura 18A, B e 19).

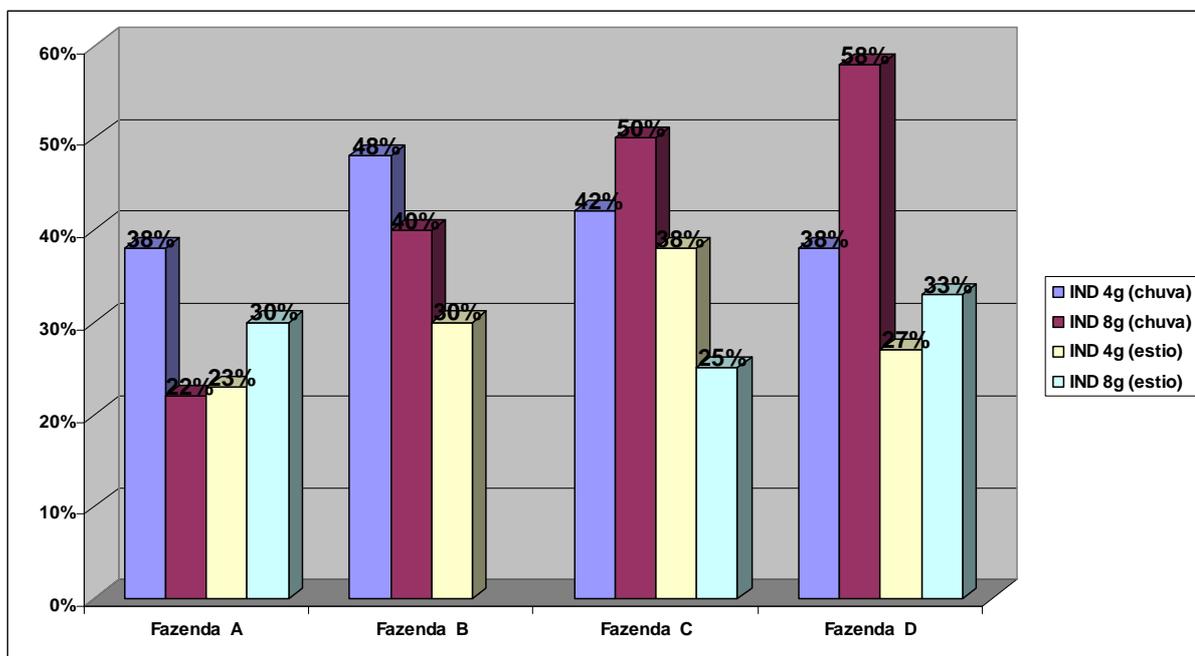


Figura 17 – Representação gráfica demonstrando o percentual de necrose no epitélio subcuticular nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio.

Segundo Martins (2003), são frequentes os registros de indivíduos afetados por *Vibrio* em sistemas de engorda, contudo não existem relatos de grandes perdas devido a sua ação como agente infeccioso principal.

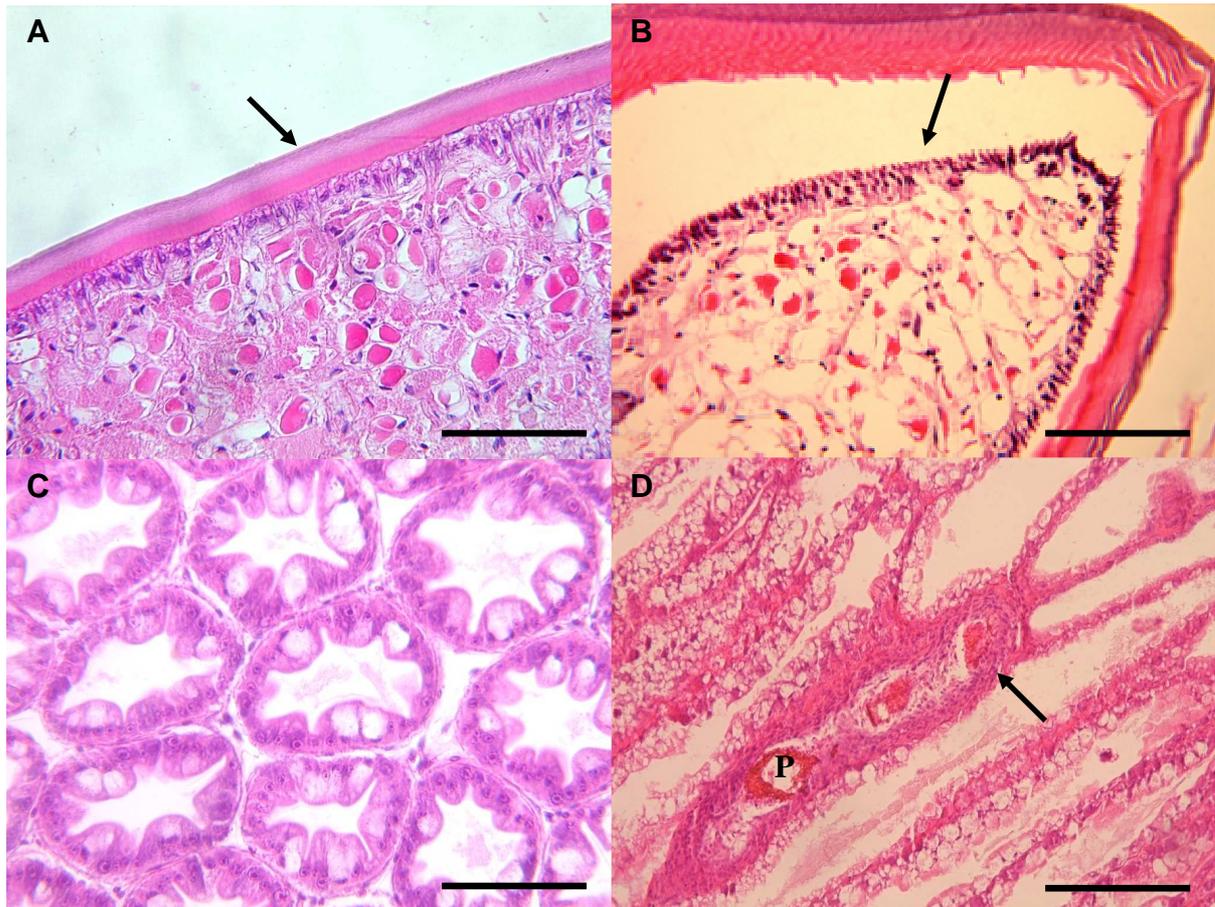


Figura 18 – A - Fotomicrografia de secção histológica longitudinal mostrando o epitélio subcuticular em estado normal (seta). B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do epitélio subcuticular necrosado por provável ação de bactérias (seta). C – Fotomicrografia de secção histológica transversal do Hepatopâncreas em estado normal. D – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal do Hepatopâncreas com forte infiltração hemocítica entre os túbulos (seta) e placas bacterianas (P) Escala 50 μ m.

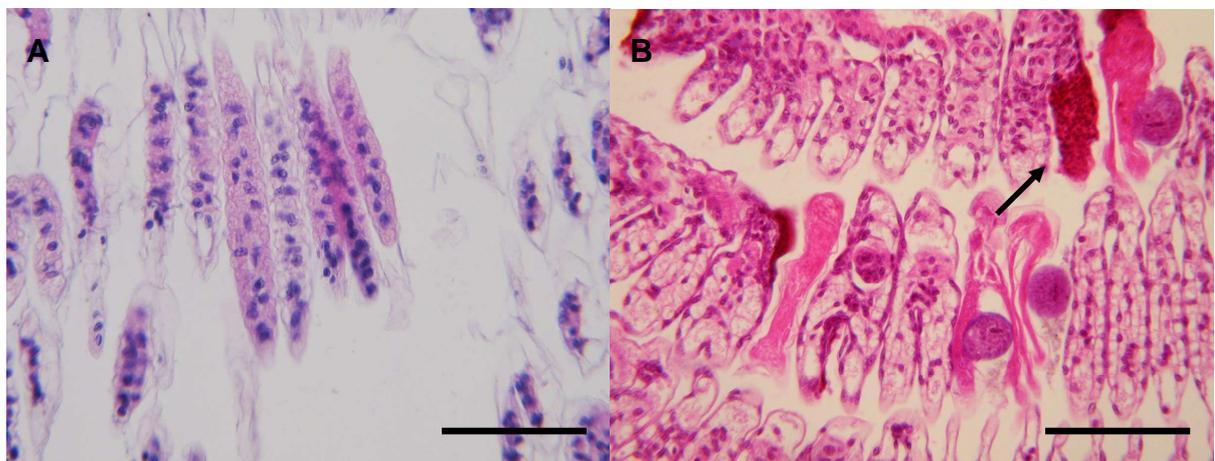


Figura 19 – A – Fotomicrografia de secção histológica das lamelas branquiais em seu estado normal. B - Fotomicrografia de secção histológica longitudinal demonstrando a ação de *Vibrio sp.* na lamela branquial (seta). Escala 50 μ m

5.2.4. Hepatopancreatite Necrosante (NHP)

A Hepatopancreatite Necrosante teve sua ocorrência limitada apenas à Fazenda D, no período de estio e com uma incidência de 3 e 10% (Figura 20).

Segundo Lightner 1996a, esta enfermidade tem sua ocorrência associada a elevadas taxas de temperatura e salinidade, corroborando os resultados obtidos nesta pesquisa, pois estes parâmetros ambientais alcançam seus maiores valores, neste período do ano.

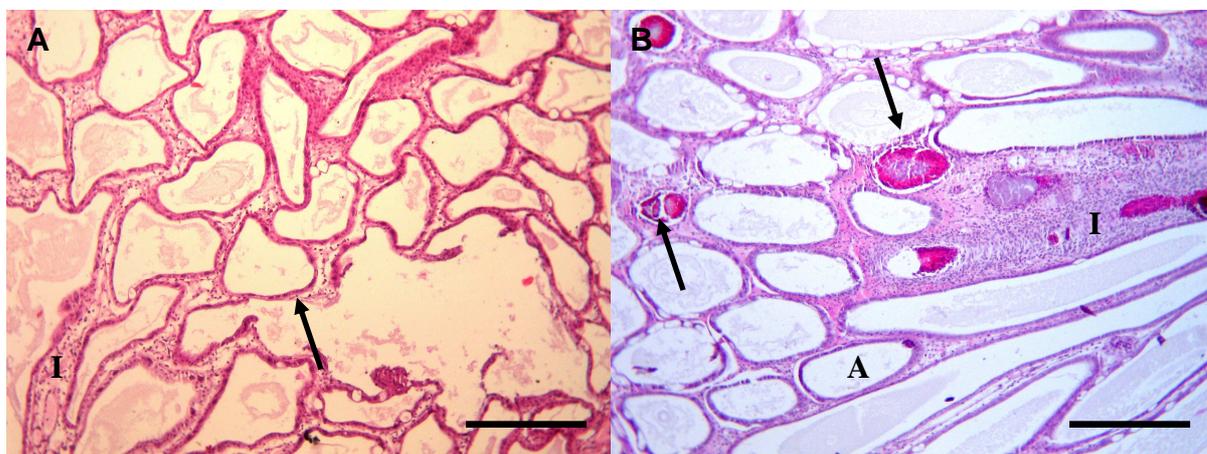


Figura 20 – A – Fotomicrografia de secção histológica transversal do hepatopâncreas com infecção por NHP na fase crônica, verificando-se a ausência de células B e R, infiltração hemocítica (I) e deformação tubular (seta). B – Fotomicrografia de secção histológica transversal do Hepatopâncreas com NHP na fase aguda da enfermidade com atrofia severa dos túbulos (A), invasão hemocítica (I) e a presença de massas bacterianas (setas) Escala 200 µm.

De acordo com Vicent e Lotz (2005), indivíduos portadores de NHP apresentam atrofia do hepatopâncreas, desprendimento celular, lesões granulomatosas multifocais ocasionadas pela multiplicação bacteriana no citoplasma das células epiteliais, poucos vacúolos de lipídeos nas células R e vesículas secretoras nas células B e no estágio final da infecção ausência de epitélio intacto e descamação das células epiteliais, densa infiltração hemocítica, melanização e fibrose.

O impacto ocasionado por esta enfermidade se deve não só pelas altas taxas de mortalidade, quando da fase final de infecção, como também pelas elevadas taxas de conversão alimentar, anorexia, crescimento reduzido, baixa relação comprimento x peso e cutícula mole (LIGHTNER; REDMAN, 1998).

Por ser uma enfermidade bacteriana seu tratamento ocorre com o uso de antibióticos. Reed *et al.*, (2004) reportam a eficiência do uso do antibiótico Oxitetraciclina (OTC) no tratamento de vibriosis e NHP em camarões cultivados. Contudo, seu uso em rações animais não é permitido no Brasil, pelo Ministério do Abastecimento, Pecuária e Agricultura – MAPA através do Decreto Nº193 (MAPA,1998). Além disto, a administração desta droga traz riscos para a saúde humana e impactos ambientais. Portanto, medidas preventivas relacionadas com o controle de temperatura e salinidade do ambiente de cultivo e redução dos níveis de estresse dos indivíduos cultivados são opções para reduzir os riscos da ocorrência e proliferação do NHP.

5.2.5. Enfermidades de menor impacto (gregarinas e epicomensais)

Os parasitas diagnosticados nas análises histopatológicas foram gregarina provavelmente *Nematopsis sp.* e epicomensais: *Epistylis sp.*, *Zoothamnium sp.*, além da presença de *fouling* de origem orgânica. A incidência de *Nematopsis sp.* variou de ausente em duas amostragens nas fazendas C e D a 82%. A Fazenda C, durante o período de chuva foi a que apresentou os maiores índices de gregarinas de 33,0 a 82,0 % (Figura 21). A análise estatística demonstrou que as gregarinas tiveram maior incidência durante a estação chuvosa, com elevada significância estatística ($\chi^2 = 59,73$; $p < 0,01$), e com relação ao peso individual a maior incidência foi em camarões com 4g, com elevada significância estatística ($\chi^2 = 28,97$; $p < 0,01$), confirmando pela histopatologia os achados durante a análise a fresco (Figura 22).

Para evitar tais índices de infestação, ocasionando perdas na produção, faz-se necessário a realização de diagnósticos presuntivos e posterior tratamento, já que se trata de uma enfermidade possível de ser controlada.

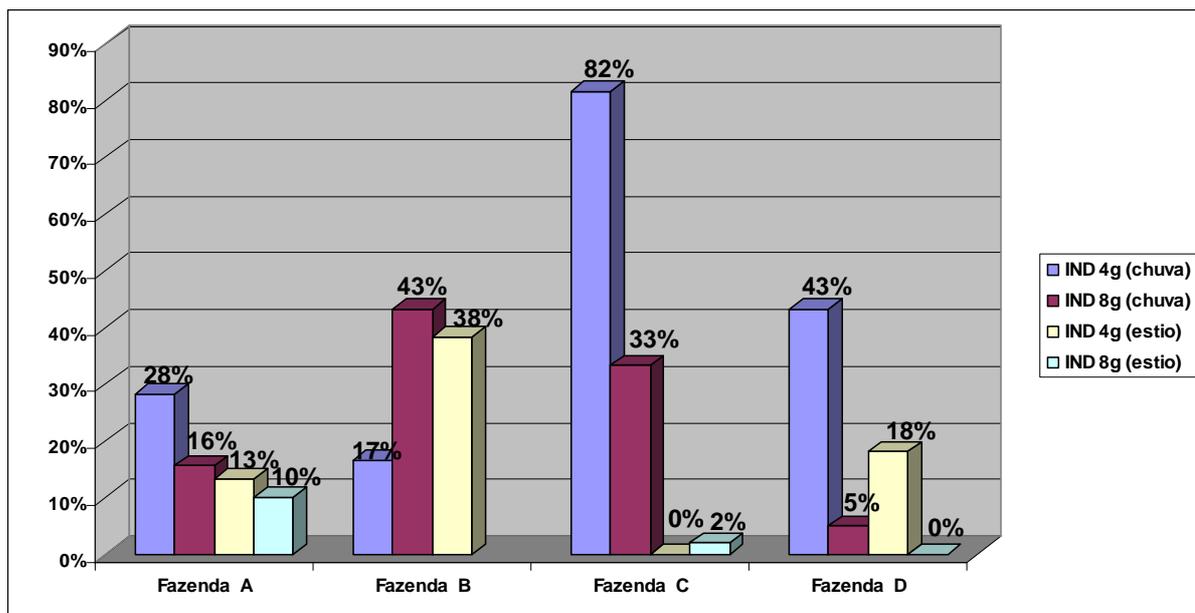


Figura 21 – Representação gráfica demonstrando o percentual de gregarinas presente nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio.

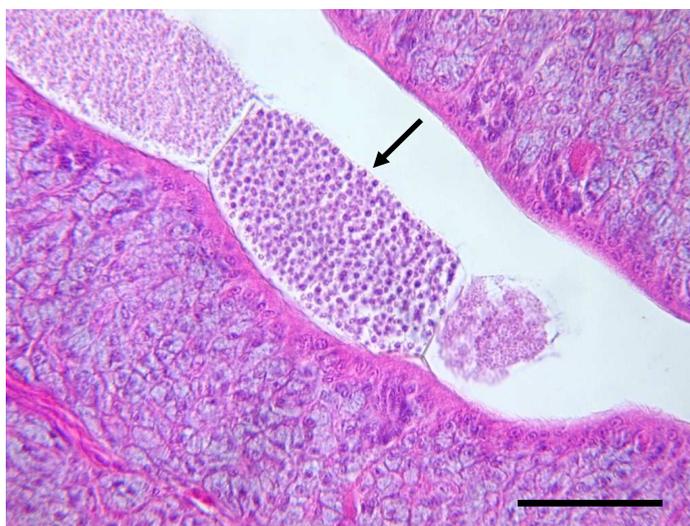


Figura 22 – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal da porção final do trato digestório evidenciando a presença de gametócito de gregarinas (seta) Escala 50 µm.

A ocorrência de *fouling* e epicomensais foi muito variada, não obedecendo a padrões de incidência, nem relação com o período do ano. No entanto a maior incidência ocorreu na fazenda D no período de chuva com 27 e 47%, esta alta incidência provavelmente se deve a alta quantidade de materiais em suspensão ocasionados pelas chuvas (Figura 23).

A presença de *fouling* foi estatisticamente igual nas estações de chuva e de estio ($\chi^2 = 2,00$; $p > 0,05$) e também em indivíduos com pesos médios de 4 g e 8 g ($\chi^2 = 0,34$; $p > 0,05$) para as quatro fazendas estudadas.

Esta incidência pode ser amenizada com a realização de manejo na água de cultivo, fazendo-se o uso de corretivos agrícolas como calcário e aumento nas taxas de renovação da água, melhorando desta forma, a qualidade do ambiente de cultivo (BOYD, 1999).

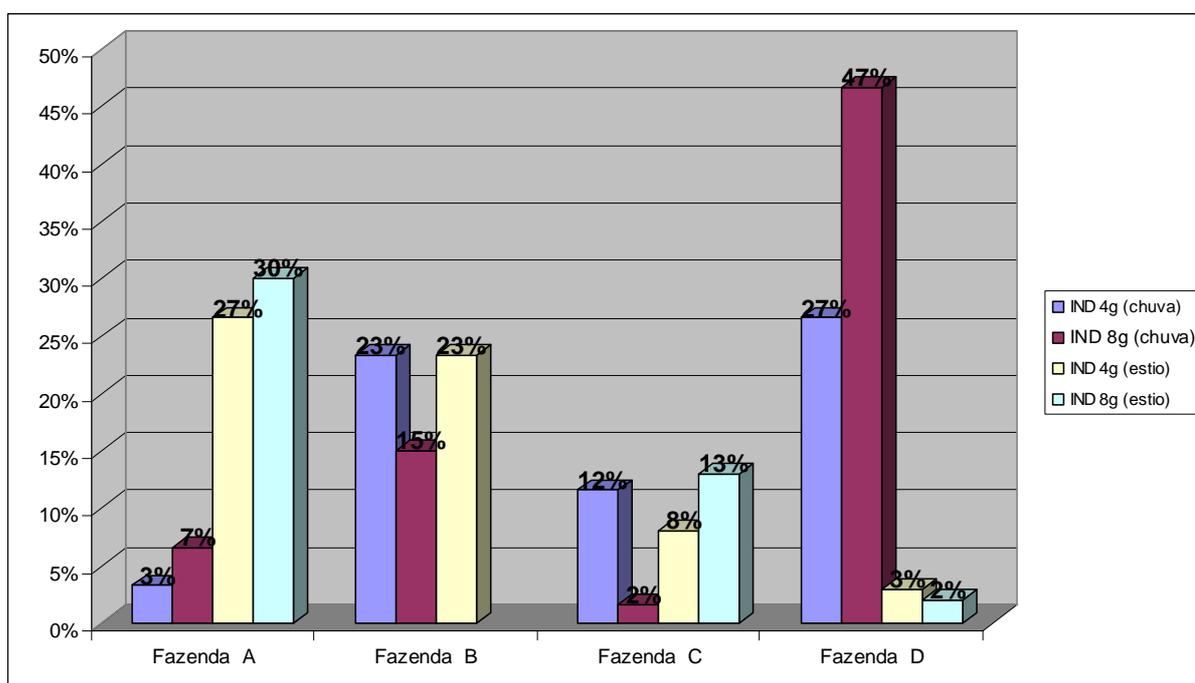


Figura 23 – Representação gráfica demonstrando o percentual de *Fouling* presente nos indivíduos analisados nas quatro fazendas investigadas durante os períodos de chuva e estio.

Foi observada a presença de epicomensais e *fouling* nos apêndices e nas brânquias dos animais analisados histologicamente (Figura 24), contudo os níveis detectados não se constituíram riscos para os indivíduos, comuns as grandes colonizações, como redução na locomoção, dificuldade respiratória nas primeiras horas do dia, quando o consumo de oxigênio é maior do que sua produção, podendo causar mortalidades por anoxia em grandes infestações como reportado por Cuéllar-Anjel (2008).

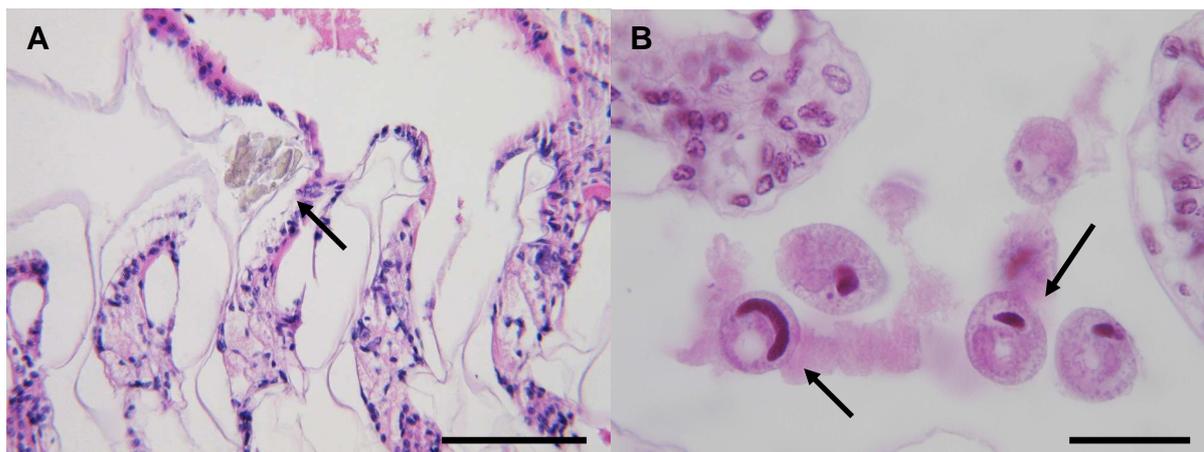


Figura 24 – A – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal de brânquias demonstrando a presença de *fouling* entre as lamelas branquiais, Escala 50 μm . B – Fotomicrografia de secção histológica longitudinal demonstrando a presença de *Epistylis* sp. aderidos as lamelas branquiais dos camarões analisados, Escala 20 μm .

6. Análise do Desempenho Zootécnico

Analisando os resultados obtidos nos cultivos das quatro fazendas no período chuvoso, verifica-se que mesmo diante de altas incidências de enfermidades de etiologia bacteriana como vibrioses com variação de 10,0 a 55,0%, necrose subcuticular de 22,0 a 58,0% e enfermidades virais como o IMNV de 10,0 a 33,0% e IHHNV de 0 a 25,%, observou-se um desempenho zootécnico de razoável a bom, em termos de sobrevivência e produtividade, com exceção para a Fazenda B que obteve apenas 59,0% de sobrevivência (Tabela IV). A Fazenda A foi a que apresentou o melhor perfil, inclusive no aspecto sanitário com baixos índices de IHHNV (0 -3,0%) e vibriose (12,0 – 20,0%), IMNV (10,0 - 20,0%). Como pode ser observado *in locu*, o seu manejo também foi diferenciado. A baixa densidade empregada na Fazenda B não favoreceu os resultados de sobrevivência (59,0%) nem o peso médio final (8,0g). Estes resultados devem ter sido influenciados pela elevada incidência de vibriose detectada, que alcançou 55,0% dos indivíduos de 4,0g. Em termos de sobrevivência e produtividade, a Fazenda C teve bons resultados, 83,0% e 2.553kg/ha, respectivamente, contudo o peso médio final foi baixo, provavelmente devido a influência da presença do IHHNV detectado em 16,0% dos indivíduos de 8,0g amostrados e necrose subcuticular encontrada em

50,0% do camarões de 8,0g. A Fazenda D com uma densidade de estocagem de 30 camarões/m² atingiu a maior sobrevivência (93,3%) e uma produtividade de 2.296 kg/ha. Resultados estes mesmo diante de 15,0 a 33,0% de indivíduos portadores de IMNV, 20,0 a 25,0% indivíduos com IHHNV, 23,0 a 32,0% com vibrioses e 38,0 a 58,0% de necrose subcuticular. Contudo, o peso médio final dos camarões foi 7,9g e o fator de conversão alimentar (FCA) de 2,1.

Dentre os resultados obtidos nos viveiros acompanhados no período de estio, contidos na Tabela IV, os melhores resultados também foram da Fazenda A com 82,0% de sobrevivência, com uma densidade de estocagem de 38 camarões/m², FCA de 1,7, produtividade de 4.667kg/ha, e peso final dos indivíduos de 15,5g, resultados estes obtidos mesmo com a presença de 5,0 a 13,0% de IMNV, 25,0 a 27,0% de IHHNV, vibrioses de 28,0% a 38,0 e necrose subcuticular com 23,0 a 30,0%. A interpretação dos resultados da Fazenda B foi prejudicada, tendo em vista que, de acordo com o técnico responsável, houve um segundo povoamento aos 30 dias de cultivo. A Fazenda C também obteve bons resultados de sobrevivência (82,6%) e produtividade de 2.529kg/há, próxima à obtida no ciclo anterior, porém o peso médio final de 7,1g foi baixo, podendo ser atribuído ao registro de 13,0 a 20% de IMNV, 13,0 a 36% de IHHNV, 20,0 a 42,0% de vibrioses e necrose subcuticular com 27,0 a 33%. No período de estio, a Fazenda D foi a que obteve os menores índices zootécnicos principalmente no que diz respeito à sobrevivência (67,0%), FCA de 1,8 e produtividade de 1.854kg/ha. Estes resultados devem ter sido fortemente influenciados pelos índices de IHHNV que alcançaram 36,0% e das enfermidades bacterianas, vibriose (29,0 – 42,0%) e necrose subcuticular (27,0 - 33,0%).

Tabela IV – Resultados zootécnicos obtidos nas fazendas em estudo durante os períodos de chuva e de estio.

Período de Chuva				
Desempenho Zootécnico	Fazenda A	Fazenda B	Fazenda C	Fazenda D
Sobrevivência (%)	74,0	59,0	83,0	93,3
Densidade (cam/m ²)	27	17	38	30
Fator de conversão alimentar (FCA)	1,7	1,8	1,9	2,1
Produtividade (Kg/ha)	2.850	783	2.553	2.296
Peso médio final (g)	14,5	8,0	8,6	7,9
Período de Estio				
Sobrevivência (%)	82	91	82,6	67
Densidade (cam/m ²)	38	20	43	30
Fator de conversão alimentar (FCA)	1,7	1,22	1,3	1,8
Produtividade (Kg/ha)	4.667	1.142	2.529	1.854
Peso médio final (g)	15,5	6,4(*)	7,1	9,5

(*)= despesca antecipada

Os parâmetros ambientais mensurados nos viveiros durante os cultivos encontram-se nas Tabela V. Conforme pode ser verificado, existe uma clara diferença em relação à salinidade entre os dois períodos de estudo. Vale ressaltar que as fazendas C e D apresentaram os maiores valores de salinidade nos dois períodos, no entanto somente na Fazenda D foi registrada a ocorrência de NHP. As temperaturas apresentaram graus de conforto para a espécie cultivada e o pH manteve-se relativamente estável.

Tabela V – Valores médios dos parâmetros ambientais mensurados nos viveiros em estudo durante os períodos de chuva e de estio.

Período de Chuva				
Parâmetros	Fazenda A	Fazenda B	Fazenda C	Fazenda D
Salinidade (‰)	4	15	27	29
Temperatura (°C)	30	26	30	30
pH	8,65	8,75	7,92	8,40
Período de Estio				
Salinidade (‰)	30	33	47	46
Temperatura (°C)	30	28	28	29
pH	8,05	8,42	8,03	8,18

7. CONCLUSÃO

- As enfermidades diagnosticadas nesta pesquisa foram: as virais: IMNV e IHHNV, as bacterianas: NHP e vibrioses e foi detectada também a presença de gregarinas e *fouling*.
- Os resultados indicaram que a enfermidade mais comum nas fazendas investigadas, em ambos os períodos de estudo, são as de etiologia bacteriana, com predominância das vibrioses com 55% de ocorrência no período chuvoso, e 50% no período de estio.
- A ocorrência de NHP foi diagnosticada quando os valores médios de salinidade e temperatura registrados foram mais elevados, ou seja, no período de estio, confirmando os achados de outros patologistas de camarão. Além disto, no mesmo período o IHHNV foi detectado em 18% dos camarões analisados, IMNV e gregarinas em 10% e *fouling* em 13%.
- Entre as enfermidades diagnosticadas no período chuvoso está o IMNV com 23% de incidência, O IHHNV com 9%, gregarinas com 33% e *fouling* em 17%.
- Todas as enfermidades detectadas nesta pesquisa foram diagnosticadas nos dois estuários em estudo, no entanto o estuário do Rio Acaraú foi o que apresentou um maior percentual de infecção em ambos os períodos de estudo
- As fazendas localizadas no Estuário do Rio Acaraú foram as que apresentaram os maiores percentuais de infecção das enfermidades diagnosticadas, com exceção de *fouling* e gregarinas no período de estio e vibriose no período de chuva para as fazendas no Estuário do Rio Jaguaribe. Apesar dos altos índices de detecção destas enfermidades no Estuário do Rio Acaraú foi possível a obtenção de bons resultados zootécnicos.

- Diante dos resultados obtidos, que sugerem a sazonalidade de algumas enfermidades detectadas, o produtor poderá realizar manejo adequado, visando reduzir os riscos de ocorrência.
- Considerando que a maioria dos resultados das análises a fresco foi confirmada pela histopatologia, sugere-se que esta ferramenta de diagnóstico seja empregada rotineiramente nas fazendas, como meio eficaz de detectar as alterações características de algumas enfermidades, possibilitando assim, as tomadas de decisões de forma mais rápida.
- Os resultados do desempenho zootécnico juntamente com o diagnóstico das enfermidades sugerem que algumas enfermidades detectadas podem estar ocorrendo sob baixa virulência e/ou os animais alcançaram a chamada “tolerância adquirida”.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC – Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. Censo da Carcinicultura Brasileira – 2003, Relatório Final, 2003.

_____. Projeto executivo para apoio político ao desenvolvimento do camarão marinho cultivado. Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Recife, p. 11. Janeiro de 2004

ACCC, Associação Cearense dos Criadores de Camarão. Agência de Desenvolvimento do Estado Ceará S.A – ADECE , Câmara Setorial do Camarão. Abril de 2009.

ABREU, I. M.; LACERDA, L. D.; MARINS, R. V. Emissões de nitrogênio e fósforo para o Estuário do Rio Jaguaribe, (CE). Revista da ABCC, n. 4, p. 76-79, 2003.

ADAMS, A. Response of penaeid shrimp to exposure to *Vibrio* species. Fish Shellfish Immunol. v. 1. p, 59–70, 1991.

AGUIRRE GUZMAN, G., AND A. VALLE F.. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. Recent Res. Dev. Microbiol. v. 4, p. 333-348. 2000

ALAPIDE, T. E. V., AND DUREZA, L. A. Isolation of *Vibrio* spp from *Penaeus monodon* (Fabricius) with red disease syndrome. **Aquaculture**. v. 154, p. 107–114. 1997.

ALDAY DE GRAINDORGE, V.; FLEGEL, T.W. Diagnosis of Shrimp Diseases with Emphasis on the Black Tiger Prawn *Penaeus monodon*. Interactive CD ROM. Multimedia Asia, Bangkok. 1999.

ANDERSON, R. S. Production of reactive oxygen intermediates by invertebrate hemocytes: immunological significance. In: SÖDERHÄLL, K.; IWANAGA, S.; VASTA, G. R. (eds.). New Directions in Invertebrate Immunology. Fair Haven, SOS Publication. p. 109-129. 1996.

ANDRADE, T. P. D.; SRISUVAN, T.; TANG, K. F. J.; LIGHTNER, D. V. Real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay using TaqMan probe for detection and quantification of Infectious myonecrosis virus (IMNV). **Aquaculture**. v. 264, p. 9-15, 2007.

ANDRADE, T. P. D.; REDMAN, R. M.; LIGHTNER, D. V. Evaluation of the preservation of shrimp samples with Davidson's AFA fixative for infectious myonecrosis virus (IMNV) in situ hybridization. *Aquaculture*. v. 278, p. 179-183, 2008.

ARAUJO, M. V.; FREIRE, G. S. S. Análise dos impactos ambientais causados em Estuários: Estudo do Estuário do Rio Acaraú, Ceará – Brasil. *Caminhos de Geografia*. Uberlândia, v.8, nº24, dez/2007. p.111 – 123. 2007.

BARBIERE JÚNIOR, R. C.; OSTRENSKY NETO, A. *Camarões Marinhos – Engorda*, v. II, Aprenda Fácil, Viçosa. 2002.

BARRACCO, M. A., PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. Inmunología en camaróns. Capítulo 6. In: MORALES, V e CUELLAR-ANGEL J. (eds). *Guía Práctica de Inmunología y Patología del Camarón*. Ed. CYTED. p. 169 – 224. 2008.

BAYNE, J.C. Phagocytosis and non-self recognition in invertebrates. **BioScience**. v.40, nº.10. p.723-731. 1990.

BAUCHAU, A. G. Crustaceans. In: RATCLIFFE, N.A.; ROWLEY, A.F. (eds.) *Invertebrate Blood Cells*. Academic Press Inc. v. 2. p. 385-420. 1981.

BERGER, C. Aportes de la bio-tecnología a la alimentación y a la inmunoestimulación de camarones peneidos. *Asociación Langostina Peruana (ALPE)*. p. 102-110. 2000.

BELL, T.A.; LIGHTNER, D. V. IHHN virus: infectivity and pathogenicity studies in *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. v.38. p 185–194, 1984.

BELL, T.A.; LIGHTNER, V. D. A handbook of normal penaeid shrimp histology. **World Aquaculture Society**. Arizona, p.114, 1988.

BING, Y.; SONG, X.; HUANG, J, SHI, X. Y.; LIU, L. Evidence of existence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus in penaeid shrimp cultured in China. **Veterinary Microbiology**. v. 34. p. 8-15, 2006.

BORNEMAN, E.; LOWRIE, J. The immune response of corals. Part One: The Invertebrate Immune System. *Aquarium.net*. Abril, 1998. Disponível em: <http://www.reefs.org/library/aquarium_net/0498/0498_1.html> Acesso em: Agosto, 2009.

BOGDAN, C.; RÖLLINGHOFF, M.; DIEFENBACH, A. Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Current Opinion in Immunology*. v.12. p. 64-76, 2000.

BOYD, C. E. Códigos de practicas para el cultivo responsable de camarón. Saint Louis, Alianza Global de Acuicultura. p. 36, 1999.

BRASIL. Plataforma Tecnológica do Camarão Marinho Cultivado: segmento de mercado/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Pesca e Aquicultura. - Brasília: MAPA/SARCC/DAP, CNPq, ABCC. p.276, 2001.

BUCHELI, P.; SAMPAIO, J.; GARCIA, F.; CARRERA, M. A Necrose Hepatopancreática (NHP) do *Litopenaeus vannamei*. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, v. 14, nº 86, p 31 -37, 2004.

BROCK, J. A.; LIGHTNER, D. V.; BELL, T. A. A review of four vírus (BP, MBV, BMN E IHHNV) diseases of penaeid shrimp with particular reference to clinical significance, diagnosis and control in shrimp aquaculture. In. INTERNATIONAL COUNCIL FOR EXPLORATION OF THE SEA, 71 Proceeding. Genebra, ICES-CM. v.10. p 1-18, 1983.

BROCK, J. A.; LIGHTNER, D. V. Disease of Crustacea: diseases caused by microorganisms. In: Kine, O. (Ed), *Diseases of Marine Animals*. Vol. III. Biologish Anstal (Helgoland, Hamburg, Germany), p. 245-454. 1990.

BROCK J. A.; MAIN, K. L. A guide to the common problems and diseases of cultures *Penaeus vannamei*. United States. Baton Rouge, LA. World Aquaculture Society; Honolulu, HI. Oceanic Institute. 1994

BROCK, J.A., GOSE, R., LIGHTNER, D.V., HASSON, K.W.,. Na overview on Taura syndrome, an important disease of farmed *Penaeus vannamei*. In: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (Eds.), *Swimming through Troubled Water*, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, p. 84–94. 1995.

BROCK, J.A., GOSE, R.B., LIGHTNER, D.V., HASSON, K.W. Recent developments and an overview of Taura Syndrome of farmed shrimp in the Americas. In: Flegel, T.W., MacRae, I.H. (Eds.), *Diseases in Asian Aquaculture*, vol. III. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 267–283. 1997.

BUENO, S. L. S. Doenças em Camarões Marinhos no Brasil. *Revista Panorama da Aquicultura*. v. 8, p.1-8. 1991.

BONAMI, J.R., HASSON, K.W., MARI, J., POULOS, B.T., LIGHTNER, D.V. Taura syndrome of marine penaeid shrimp: characterization of the viral agent. **J. Gen. Virol.** v. 78, p. 313–319, 1997.

CERENIUS, L.; LEE, B. L.; SÖDERHÄLL, K. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends in Immunology*. v. 29, p. 263-271, 2008.

CHEN, S. N. Coping with diseases in shrimp farming. In: *Shrimp'92, Hong Kong. Proceedings of the 3rd Global Conference on the Shrimp Industry, Hong Kong*, v. 14-16, p.113-117, 1992.

CHIEN T, HSU-TIEN H.; SHENG-HSIUNG C.; JUNG-PING, H.; Shu-Ting, K., Nan-Jung, L., Tien-Lai, H., Ming-Chang, L.; Shih-Yuh, L. Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. *Dis Aquat Org* 38: 159–161. 1999.

CHONG, Y. C., LOH, H. Hepatopancreas chlamydial and parvoviral infections of farmed marine prawns in Singapore. **Singap. Vet. J.** v. 9, p. 51–56, 1984.

COELHO, M. G. L.; SILVA, A. C. G.; VILA NOVA, C. M. V.; OLIVEIRA NETO, J. M.; LIMA, A. C. N.; FEIJÓ, R. G.; APOLINÁRIO, D. F.; MAGGIONI, R.; GESTEIRA, T. C. V. Susceptibility of the wild southern brown shrimp (*Farfantepenaeus subtilis*) to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis (IHHN) and infectious myonecrosis (IMN). *Aquaculture*. v. 294, p 1-4, 2009.

CUÉLLAR-ANJEL, J. Enfermedades por parasitos. *En: Morales, V. y J. Cuéllar (eds). Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. Programa CYTED-Red II-D: Vannamei, Panamá, Rep. Panamá.* p.137-157 2008.

DESTOUMIEUX D.; BULET P.; STRUB J.-M.; BACHERE E. Recombinant expression and range of activity of penaeidins, antimicrobial peptides from penaeid shrimp. *Eur. J. Biochem.* v. 266. p. 335–346. 1999.

DE LA PEÑA, L.D.; TAMAKI, K. T.; MOMOYAMA, T. N.; MUROGA, K. Characteristic of causative bacterium of vibriosis in karuma prawn, *Penaeus japonicus*. **Aquaculture**. v. 115, p, 1 – 12, 1993.

DE LA PEÑA, L.D.; KAKAI, T.; MUROGA, K. Dynamics of *Vibrio* sp PJ in organs of orally infected kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. **Fish. Pathol.** v. 30, p. 39-45, 1995.

FAO - Food and Agriculture Organization of United Nations. CATALOGUE Vol.1 - Shrimps and Prawns of the World. An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries. L.B. Holthuis. FAO Fisheries Synopsi. v. 1. nº 125. 1980.

_____. El Estado Mundial De La Pesca Y La Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. ROMA, 2009.

FARMER III, J. J.; HICKMAN-BRENNER, F. W. The genera *Vibrio* and photobacterium. In: Balows, A, TruE per, H.G., Dworkin, M., Harder, W., & Schleifer, K.H. (Eds.). (1992). The Prokaryotes. New York, NY: Springer Verlag, 2nd ed. v. II, p. 2952 – 3011, 1992.

FEIJÓ, R. G.; KAMIMURA, M. T.; OLIVEIRA, D. M.; COSTA, R. B.; FURTADO NETO, M. A. A.; COELHO, M. G. L.; MAGGIONI, R. Avaliação da Variabilidade Genética do Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV) no Camarão Rosa, *Farfantepenaeus subtilis*, infectado experimentalmente. *Arquivos de Ciências do Mar.* v. 41, p. 113-117, 2008.

FEIJÓ, R. G. Prospecção de genes relacionados à ocorrência de enfermidades no camarão *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931) sob condições de cultivo. Dissertação apresentada ao curso de Ciências Marinhas Tropicais. Universidade Federal do Ceará LABOMAR-UFC. Fortaleza, 2009.

FEIGENBAUM, D.L. Parasites of the commercial shrimp *Penaeus vannamei* Boone and *Penaeus brasiliensis* Latreille. *Bulletin Marine Science.* v. 25, p. 491-514.1975.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Certificação Sanitária na Aquicultura. **Panorama da Aquicultura.** Rio de Janeiro. v. 18, nº107. p. 14-20, maio/junho de 2008.

FLEGEL, T. W.; THAMAVIT, V.; PASHARAWIPAS, T.; ALDAY-SANZ, V. Statistical correlation between severity of hepatopancreatic parvocirrus (HPV) infection and stunting of farmed black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Aquaculture.** v. 174, p. 197-206, 1999.

FLEGEL, T.W. The shrimp response to viral pathogens. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The new wave. Proceedings of the special session on sustainable shrimp aquaculture*. World Aquaculture Society, Boca Raton. p. 190–214, 2001.

FRELIER, P.F.; LOY, J.; BELL, T.A.; LEWIS, D.H., Microscopic and ultrastructural studies of necrotizing hepatopancreatitis in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. cultured in Texas. **Vet. Pathol.** v. 29, p. 269–277, 1992.

GANZ, T.; LEHRER, R.I. Antimicrobial peptides of vertebrates. **Current Opinion in Immunology.** v.10. p. 41-44, 1998

GARGIONI, R.; BARRACCO, M. A. Hemocytes of the palaemonids *Macrobrachium rosenbergii* and *M. acanthurus*, and of the penaeid *Penaeus paulensis*. *Journal of Morphology.* v. 236. p. 209-221, 1998.

GARZA, J.R., HASSON, K.W., POULOS, B.T., REDMAN, R.M., WHITE, B.L., LIGHTNER, D.V. Demonstration of infectious Taura Syndrome virus in the feces of sea gulls collected during an epizootic in Texas. **J. Aquat. Anim. Health.** v. 9 _2, p. 156–159, 1997

GESTEIRA, T. C. V.; ANDRADE, T. P. Registros da ocorrência de algumas enfermidades em um cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) no Estado do Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE CRUSTÁCEOS (Resumos), Sociedade Brasileira de Carcinologia, São Pedro. p. 51, 2002.

GESTEIRA, T. C. V. Enfermidades infecciosas registradas na carcinicultura brasileira. In: Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. ABRAPOA. Maringá: Silva-Souza. p. 137-158, 2006.

GOMEZ-GIL, B.; TRON-MAYÉN, L.; ROQUE, A.; TURNBULL, J. F.; INGLIS, V.; GUERRA-FLORES, A. L. Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 163, nº. 1, p. 1-9, 1998.

GUZMÁN, G. A.; VALLE, F. A. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. *Resent Res. Devl. Microbiology.* v. 4, p. 333-348, 2000.

HAMEED, A. S. S. Susceptibility of three *Penaeus* species to a *Vibrio campbellii*-like Bacterium. **J. World Aquacult. Soc.** v.26, p. 315– 318, 1995.

HARRIS, L. The involvement of toxins in the virulence of *Vibrio harveyi* strains pathogenic to the black tiger shrimp *Penaeus monodon* and the use of commercial probiotics to reduce shrimp hatchery disease outbreaks caused by *V. harveyi* strains. CRC for Aquaculture, Scientific Conference abstract, Bribie Island, Australia. 1995.

HASSON K.W.; LIGHTNER D.V.; POULOS B.T.; REDMAN R.M.; WHITE B.L.; BROCK J.A.; BONAMI J.R. Taura Syndrome in *Penaeus vannamei*: Demonstration of a viral etiology. **Dis. Aquat. Org.** v. 23. p. 115-126,1995.

HASSON, K.W., LIGHTNER, D.V., MARI, J., BONAMI, J.R., POULOS, B.T., MOHNEY, L.L., REDMAN, R.M., BROCK, J.A. The geographic distribution of Taura syndrome virus (TSV) in the Americas: determination by histopathology and in situ hybridization using TSV-specific cDNA probes. **Aquaculture**. v. 171, p. 13–26, 1999a.

HASSON, K.W., LIGHTNER, D.V., MOHNEY, L.L., REDMAN, R.M., POULOS, B.T., WHITE, B.M.,. Taura syndrome virus (TSV) lesion development and the disease cycle in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** v. 36, p. 81–93, 1999b.

HASSON, K.K.W., LIGHTNER, D.V., MOHNEY, L.L., REDMAN, R.M., WHITE, B.M.,. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in *Penaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** v. 38, p. 93–105, 1999c.

HASSON, K.W.; FAN, Y.; VARNER, P.W. Current infectious marine shrimp diseases of concern in the United States. In: Corean-US Seminar and Workshop on Sustainable Marine Shrimp Farming. Incheon 2005. Final Report. West Sea Fisheries Research Institute/NOAA. p.24-26, 2005.

HERNANDEZ, J. Z.; NUNES, A. J. P. Biossegurança no cultivo de camarão marinho: qualidade da água e fatores ambientais. **Revista da ABCC**. v. 3, p. 55-59, 2001.

HOSE, J. E.; MARTIN, G. G.; GERARD, A. S. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function. *Biological Bulletin*. v. 178, p. 33-45, 1990.

HUNER, J. V.; BROWN, E. Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States. An avi Book, New York. 1985.

INOUE, K.; MIWA, S.; OSEKO, N.; NAKANO, H.; KIMURA, T.; MOMOYAMA, K.; HIRAOKA, M. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in

Japan in 1993: electron microscopic evidence of the causative virus. **Fish Pathology**. v. 29, p. 149- 158, 1994.

IWANAGA, S.; LEE, B. L. Recent advances in the innate immunity of invertebrate animals. *Biochemistry and Molecular Biology*, v. 38. p. 128-150. 2005.

JIMENEZ, R. Síndrome de Taura _Resumen_. *Acuicultura del Ecuador*. v. 1, p. 1–16. 1992

JOHNSON, S.K., Handbook of Shrimp Diseases. Sea Grant Publ. No. TAMU-SG-90-601. Texas A&M Univ. p. 25, 1990.

JUSSILA, J.; Mc BRIDE,S.; JAGO, J.;EVANS,L.H. Hemolymph clotting time as an indicator of stress in Western lobster (*Panulirus cygnus* George) **Aquaculture**. v. 199, p. 185-193, 2001.

KAWABATA, S; IWANAGA, S. Role of lectins in innate immunity of horseshoe crab. **Developmental & Comparative Immunology**, v.23, p.391-400. 1999.

KARUNASAGAR, I.; PAI, R.; MALATHI, G. R.; KARUNASAGAR, I. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture**. v. 128, p. 203–209, 1994.

KROL, R.M., HAWKINS, W.E., OVERSTREET, R.M. Rickettsial and mollicute infections in hepatopancreatic cells of cultured Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). **J. Invertebr. Pathol.** v. 57, p. 362–370, 1991.

LAVILLA-PITOGO, C.R., BATICADOS, C.L., CRUZ-LACIERDA, E.R.; DE LA PENA, L. Occurrence of luminous bacteria disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. **Aquaculture**. v. 91, p. 1-13, 1990.

LEE, K-K; CHEN, F-R; LIU, P.C. Hemostasis of Tiger Prawn *Penaeus monodon* Affected by *Vibrio harveyi*, Extracellular Products and a Toxic Cysteine Protease. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**. v.15, p. 180-192, 1999.

LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. **Aquaculture**. v. 191, p. 121-131, 2000.

LEWIS, D.H. Response of brown shrimp to infection with *Vibrio* sp. Proc. Wld. Maricult. Soc. v.4, p. 333-338, 1973.

LIGHTNER, D. V.; LEWIS, D. H. A septicemic bacterial disease syndrome of penaeid shrimp. Mar. Fish. Rev. v. 37(5-6), p. 25-28, 1975.

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

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M.; BELL, T. A. Detection of IHHN virus in *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei* imported into Hawaii. **J. World Maric. Soc.** 14, 212–225, 1983a.

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M.; BELL, T. A. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. **J. Invertebr. Pathol.** v. 42, p. 62-70, 1983b.

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M. A parvo-like virus disease of penaeid shrimp. **J. Invertebr. Pathol.** v. 45, p. 47–53, 1985.

LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M. Penaeid virus diseases of the shrimp culture industry of the Americas. In: Fast AW, Lester LJ (eds) Marine shrimp culture: principles and practices. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, p 569-588, 1992.

LIGHTNER, D. V. Diseases of culture penaeid shrimp. In: McVey J.P. (ed) CRC handbook of mariculture, 2nd Ed, Vol 1. Crustacean aquaculture. CRC Press, Boca Raton, p 393-486, 1993.

LIGHTNER, D.V., R.M. REDMAN, K.W. HASSON, C.R. PANTOJA. Taura syndrome in *Penaeus vannamei* Crustacea: Decapoda: gross signs, histopathology and ultrastructure. **Dis. Aquat. Org.** v. 1, p. 53-59, 1995.

LIGHTNER, D. V. A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA., p. 304, 1996a.

LIGHTNER, D.V. Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties. v. 15, p. 579-601. 1996b.

LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M. Shrimp diseases and current diagnostic methods. **Aquaculture**, Amsterdam, v.164, p. 201-220, 1998.

LIGHTNER, D. V. The penaeid shrimp virus TSV, IHNV, WSSV AND YHV: Status in: the Americas, available diagnostic methods and management strategies. **J. Applied Aquaculture**. v. 9, p. 27-52, 1999.

LIGHTNER, D.V., PANTOJA, C.R., POULOS, B.T., TANG, K.F.J., REDMAN, R. M.; ANDREAS, T., BONAMI, J. R. Infectious myonecrosis (IMN): a new virus disease of *Penaeus vannamei*. Aquaculture 2004 Book of Abstracts. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, p. 353. 2004a.

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. The Advocate Global Aquaculture Alliance, 7, 85, p. 17-22. 2004b.

LIU, P.C.; LEE, K.K.; CHEN, S.N. Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Letters in Applied Microbiology. v. 22, p. 413-416, 1996.

LO, C.F.; LIN, K.F.; HO, C.H.; CHUY, L.; CHEN, C.H.; YEH, P.Y.; PENG, S.E. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *P. monodon* with a special emphasis on reproductive organs. **Dis. Aquat. Org.** v. 30, p. 53-72, 1997.

LO, C. F.; HSU, H. C.; TSAI, M. F.; HO, C. H.; PENG, S. E.; KOU, G. H.; LIGHTNER, D.V. Specific genomic DNA fragment analysis of different geographical clinical samples of shrimp white spot syndrome virus. **Dis. Aquat. Org.** v. 35, p. 175-185, 1999.

LOH, P. C.; CESAR, E.; NADALA, JR., B.; TAPY, L. M.; LU, Y. Recent developments in immunologically-based and cell culture protocols for the specific detection of shrimp viral pathogens. In: FLEGEL, T. W. (ed.) Advances in shrimp biotechnology. Bangkok, National Center for Generic Engineering and Biotechnology. p. 255-259, 1998.

LOY, J.K.; FRELIER, P.F. Specific, nonradioactive detection of the NHP bacterium in *Penaeus vannamei* by in situ hybridization. Journal of Veterinary Diagnostic Investigations. v. 8, p. 324-331, 1996.

LOY, J.K.; FRELIER, P.F.; VARNER, P. et al. Detection of the etiologic agent of necrotizing hepatopancreatitis in cultured *Penaeus vannamei* from Texas and Peru by polymerase chain reaction. **Dis Aquat Org.** Oldendorf/Luhe, [s.n.], v.25, p. 117-122, 1996.

LOTZ J. M The effect of host size on virulence of Taura syndrome virus (TSV) to the marine shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae). **Dis Aquat Org.** v. 30, p. 45–51, 1997

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) MARA/SISLEGIS (Sistema de Legislação Agrícola Federal) Decreto Ministerial Nº 193, Brasília, DF, 12 de maio, 1998.

MARTIN, G. G.; HOSE, J. E.; MINKA, G.; ROSENBERG, S. Clearance of bacteria injected into the hemolymph of the ridgeback prawn, *Sicyonia ingentis* (Crustacea: Decapoda): Role of hematopoietic tissue. **Journal of Morphology.** v. 227. p. 227-233. 1996.

MARTINS, P. C. C. Influência das condições ambientais e das técnicas de manejo de produção sobre a ocorrência de enfermidades na criação de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, no Estado do Ceará. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. p. 117. 2003.

MAYO, M.A. Virus taxonomy - Houston 2002. *Archives of Virology.* v. 147/5: p. 1071-1076. 2002a.

MAYO, M. A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Archives of Virology.* v. 147, p. 1655–1663. 2002b.

MENDONZA, H.L; FAYE, I. Physiological aspects of immunoglobulin superfamily in invertebrates. **Developmental & Comparative Immunology.** v. 23, p. 359-374. 1999.

MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Enfermedades Bacterianas. pp 117-134 *En: Morales, V. y J. Cuéllar (eds). Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. Programa CYTED-Red II-D: Vannamei, Panamá, Rep. Panamá. p. 270, 2008.*

McVEY, J.P. Crustacean Aquaculture. Boca Raton: CRC Press (CRC Handbook of Mariculture. v.1, p. 639, 1993.

NANHAI, H; QIN, Q.; XU, X. Differential profile of genes expressed in hemocytes White spot syndrome - resistant shrimp (*Penaeus japonicus*) by combining suppression subtractive hybridization and differential hybridization. **Antiviral Research**,. v. 66, p. 39 – 45, 2005.

NASH, G. NITHIMATHACHOKE, C.; TUNGMANDI, C.; ARKARJAMORN, A.; PRATHANPIPAT, P.; RUAMTHAVEESUB, P. Vibriosis and its control in pond-reared *Penaeus monodon* in Thailand. In: M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Authur (eds.) Diseases in Asian Aquaculture 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p. 143-155, 1992.

NUNAN, L. M.; LIGHTNER, D. V. Development of a non-radioactive gene probe by PCR for detection of white spot syndrome virus (WSSV). **Journal of virology methods**. v. 63, p. 193-201, 1997.

NUNAN, L. M.; POULOS, B. T.; LIGHTNER, D. V. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. **Aquaculture**. v. 160, p. 19-30. 1998.

NUNES, A. J. P. Fundamentos da Engorda de Camarões Marinhos. São Lourenço da Mata: Purina do Brasil, p. 48. 2002.

NUNES, A. J. P.; MARTINS, P.C. Avaliando o estado de Saúde de Camarões Marinhos na Engorda. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, vol 12, n 72, p 23-33, 2002.

NUNES, A. J. P.; MARTINS, P. C.; GESTEIRA, T. C. Carcinicultura Ameaçada. **Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro. v. 14. p. 37-57. maio/jun. 2004.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DE EPIZOOTIES Diagnostic manual for aquatic animal diseases, 3rd edn. Chapt 4.1.1. Taura syndrome virus. Office International de Epizootics, Paris. 2000.

_____. International Aquatic Animal Health Code and Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, 5th Edn. Office International des É pizooties, Paris. (http://www.oie.int/eng/normes/en_acode.htm). 2002.

_____. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases (6th. ed.), Paris. Disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/manual2003/A_00045.htm. Acesso em: 15.04.2009. 2003

_____. Disease Information, August 2005, vol. 18, n° 32. Disponível em: http://www.oie.int/eng/info/hebdo/AIS_58.HTM#Sec0. Acesso em: 15.04.2009. 2005

OLIVEIRA-NETO, J. M. Investigação da ocorrência dos Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV) em camarões coletados em área sob influência de efluentes da carcinicultura. Dissertação apresentada ao curso de Ciências Marinhas Tropicais. Universidade Federal do Ceará LABOMAR-UFC. Fortaleza, 2006.

OMOTO, C. K.; TOSO, M.; TANG, K.; SIBLEY, L. D. Expressed sequence tag (EST) analysis of Gregarine gametocyst development. *International Journal for Parasitology*. v. 34, p. 1265–1271, 2004.

OWENS, L.; HALL-MENDELIN. Recent Advances in Australian shrimps (sic) diseases and pathology. *Advances in Tropical Aquaculture*, Tahiti, AQUACOP, IFREMER, Actes de Colloque 9, p. 103-112, 1989.

OWENS, L.; ANDERSON, I. G.; KENWAY, M.; TROTT, L.; BENZIE J. A. H Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in a hybrid penaeid prawn from tropical Australia. *Dis. Aquat. Org.* v. 23, p. 219-228, 1992a.

OWENS, L., MUIR, P., SUTTON, D.; WINGFIELD, M. The pathology of microbial diseases in tropical Australian Crustacea. In: M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Authur (eds.) *Diseases in Asian Aquaculture 1*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p. 165-172, 1992b.

OLAFSEN, J. A., Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 200, n°.1-2, p. 223– 247, 2001.

OVERSTREET, R.M., D.V. LIGHTNER, K.W. HASSON, S. MCILWAIN, AND J. LOTZ. Susceptibility to TSV of some penaeid shrimp native to the Gulf of Mexico and southeast Atlantic Ocean. **J. Invertebr. Pathol.** v. 69, p. 165-176. 1997.

PANTOJA, C. R.; LIGHTNER, D. V.; HOLTSCMIT, K. H. Prevalence and geographic distribution of IHHN parvovirus in wild penaeid shrimp (Crustacea: Decapoda) from the Gulf of California, Mexico. *J. Aquat. Anim. Health*. v. 11. p. 23-34, 1999.

PANTOJA C. L.; LIGHTNER, D.V. Necrotizing hepatopancreatitis: diagnosis, distribution in shrimp. **Global Aquaculture Advocate**. p. 6:18, 2003.

PANTOJA, C. R.; LIGHTNER, D. V. Enfermedades Virales. pp 55-114 *En: Morales, V. y J. Cuéllar (eds). Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. Programa CYTED-Red II-D: Vannamei, Panamá, Rep. Panamá. p. 270, 2008.*

PAREDES, L. O vírus da mancha branca no Brasil. **Revista da ABCC.** p. 1-30., 2005

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

PEREIRA, A. M. L.; MENDES, E. S.; GESTEIRA, T. C. V. Mionecrosis infecciosa viral (IMNV) y sus implicaciones em los cultivos de camarones brasileños. In: *patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. CYTED-RED II-D: Red Vannamei, Panamá: Morales & Cuéllar-Anjel, p. 96-106, 2008.*

PÉREZ-FARFANTE, I.; KENSLEY, B. *Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Spraw of the world: Key and Diagnoses for the Families and Genera. Edition du Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, 1997.*

PERKINS, F.O. The apicomplexa, microsporidia, haplosporidia, paramyxea, myxosporidia and actinosporidia. in F.W. Harrison and J.C. Corliss (eds). *Microscopic anatomy of invertebrates, Protozoa, Wiley-Liss, New York, NY. v. 1, p. 288-302, 1991.*

PINHEIRO, W. C.; AMARO FILHO, J.; MARACAJÁ, P. B., Efeitos climáticos e físico-químicos sobre a biologia do *Litopenaeus vannamei* cultivado em viveiro. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável.** Mossoró – RN – Brasil. v. 2, nº 2. p. 142-150, julho-dezembro de 2007.

RAJENDRAN, K.V.; VIJAYAN, K.K.; SANTIAGO, T.C.; KROL R.M. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp prawns crabs and lobsters from India. **Journal of Fish Diseases.** v. 22, p. 183 -191. 1999

RÍO-RODRÍGUEZ, R. E.; SOTO-RODRÍGUEZ, S.; LARA-FLORES, M.; CU-ESCAMILLA, A. D.; GOMEZ-SOLANO, M. I. A necrotizing hepatopancreatitis (NHP) outbreak in a shrimp farm in Campeche, Mexico: A first case report. *Aquaculture.* v. 255, p. 606–609, 2006

ROBERTSON, P. A. W., CALDERON, J., CARRERA, L., STARK, J. R., ZHERDMANT, M.; AUSTIN, B. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. **Dis. Aquat. Org.** v. 32, p. 151–155, 1998.

ROCHA, I. P. Panorama da Carcinicultura brasileira em 2007: Desempenho, Desafios e Oportunidades. **Revista Panorama da Aquicultura.** vol. 17, nº104, Nov/dez- 2007

ROCHA, I. P.; ROCHA, D. M. Produção Mundial de Camarão: principais produtores, mercados e oportunidades para o Brasil. **Revista da ABCC.** Ano XI nº 1: p. 50-59, 2009

ROCHA, R. S. *Vibrio* spp. na água e sedimento de viveiros de fazenda de carcinicultura no estado do Ceará - Brasil. Monografia Apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará – UFC. 2008.

ROCH, P. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrate. **Aquaculture**, v. 172. p. 125-145. 1999.

ROMANO, L. A. O vírus da mancha branca no Equador. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE ENFERMIDADES DE CAMARÕES, 2005 Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Aquicultura. 2005.

ROBLES-SIKISAKA, R., D.K. GARCIA, K.R. KLIMPEL; A.K. DHAR. Nucleotide sequence of 3'-end of the genome of Taura Syndrome virus of shrimp suggests that it is related to insect picornaviruses. **Arch. Virol.** v. 146, p. 941-952, 2001

SANCHEZ-MARTINEZ, J. G.; AGUIRRE-GUZMAN, G.; MEJIA-RUIZ, H. White spot syndrome virus in cultured shrimp: a review. **Aquaculture Research.** v. 38, p, 1339-1354, 2007.

SAAVEDRA-BUCHELI, M.; ALVAREZ-LEON, R. ; REY-CARRASCO, I. Análisis de la incidencia de gregarinas em cultivos comerciales de *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris* en el sur del caribe colombiano. *Archivos de Ciências do Mar*, v. 41 (1), p. 9 - 23, 2008.

SEIFFERT, W. D.; WINCLER, S.; MAGGIONI, D. A mancha branca em Santa Catarina. **Revista Panorama da Aquicultura**, nº87, 51-53, 2005.

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, p. 32-38, 2007.

SODERHALL, K.; CERENIUS, L. Crustacean immunity. **Rev. of Fish Diseases**. p. 3-23, 1992.

SUKHUMSIRICHART, W.; KIATPATHOMCHAI, W.; WONGTEERASUPAYA, C.; WITHYACHUMNARNKUL, B.; FLEGEL, T. W.; BOONSEANG, V.; PANYIM, S. Detection of hepatopancreatic parvovirus (HPV) infection in *Penaeus monodon* using PCR-ELISA. *Molecular and Cellular Probes*. v. 16, p. 409-413. 2002.

SNIESZKO, S.F. Diseases of fishes and their control in the U.S. In: The Two Lakes Fifth Fishery Management Training Course Report. Jansen, London. p. 55-66, 1973.

TANG, K. F. J.; LIGHTNER, D. V. High genetic variation among isolates of Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) collected from southeast Asia, Madagascar and east Africa. *World Aquaculture Society*. Baton Rouge, LA, USA. p. 328, 2002.

TANG, K. F. J.; POULOS, B. T.; WANG, J.; REDMAN, R. M.; SHIH, H. H.; LIGHTNER, D. V. Geographic variations among infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) isolates and characteristics of their infection. **Dis. Aquatic. Org.** v. 53, p. 91-99, 2003.

TANG, K. F. J.; 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). **Dis. Aquat. Org.** v. 63, p. 261-265, 2005.

TANG, K.F.J., LIGHTNER, D.V., Phylogenetic analysis of Taura syndrome virus isolates collected between 1993 and 2004 and virulence comparison between two isolates representing different genetic variants. **Virus Res.** v. 112. p. 69–76, 2005.

TANG, K. F. J.; LIGHTNER, D. V. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV)-related sequences in the genome of the black tiger prawn *Penaeus monodon* from Africa and Australia. *Virus Research*. v. 118, p. 185-191, 2006.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. Editora Manole, Barueri – SP. p. 333, 2003

TSAI, M. F.; KOU, H. C.; LIU, H. C.; LIU, K. F.; CHANG, C. F.; PENG, S. E.; HSU, H. C.; WANG, C. H.; LO, C. F. Long-term presence of white syndrome virus (WSSV) in cultivated shrimp population without disease outbreak. **Dis. Aquat. Org.** v. 38, p. 107 – 114, 1999.

TSUKAMOTO, K. K., OYAZU, H., NANBA, K., AND SIMIDU, U. Phylogenetic relationship of marine bacteria, mainly members of the family Vibrionaceae, determined on the basis of 16S rRNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* v. 43, p. 8–19, 1993.

THOMPSON, J. A.; FRELIER, P. F.; LAWRENCE, A. L. Monitoring health and environment in U.S. shrimp farms. In: INTERNATIONAL CONGRESSO F ANIMAL HYGIENE, 8. Anais. p. 121 – 124, 1994.

VALENTI, W. C. Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília – DF, CNPq, Ministério da Ciência e Tecnologia. p. 399, 2000.

VAN DE BRAAK, C.B; BOTTERBLOM, M.H.A.; TAVERNE, N.; VAN MUISWINKEL, W.B.; ROMBOUT, J.H.W.M.; van der KNAAP, W.P.W. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp. **Fish and Shellfish Immunology.** v. 13. p. 293-309, 2002.

VINCENT, A. G.; LOTZ, J.M. Time course of necrotizing hepatopancreatitis (NHP) in experimentally infected *Litopenaeus vannamei* and quantification of NHP-bacterium using realtime PCR. **Dis. Aquat. Org.** Oldendorf/Luhe, [s.n.], v. 67, p. 163-169, 2005.

VLAK, J.M.; BONAMI, J.R.; FLEGEL, T.W.; KOU, G.H.; LIGHTNER, D.V.; LO, C.F.; LOH, P.C.; WALKER, P.W. Nimaviridae. *Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Elsevier, Amsterdam, p. 187–192, 2005.

WANG, Y.C.; LO, C.F.; CHANG, P.S.; KOU, G.H. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. **Aquaculture.** v. 164, p. 221–231, 1998.

YU, C.I.; SONG, Y. L. Outbreaks of Taura Syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. **Fish Pathology.** v. 32, p. 21-24, 2000.