



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

JHONATAS TEIXEIRA VIANA

**POTENCIAL IMUNOLÓGICO E EXPRESSÃO GÊNICA DE LECTINAS EM
CAMARÕES *Penaeus vannamei* CULTIVADOS EM ÁGUAS OLIGOHALINAS E
DESAFIADOS COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)**

FORTALEZA

2023

JHONATAS TEIXEIRA VIANA

POTENCIAL IMUNOLÓGICO E EXPRESSÃO GÊNICA DE LECTINAS EM
CAMARÕES *Penaeus vannamei* CULTIVADOS EM ÁGUAS OLIGOHALINAS E
DESAFIADOS COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)

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

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.
Co-orientador: Dr. Rafael dos Santos Rocha

FORTALEZA

2023

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

- V667p Viana, Jhonatas Teixeira.
Potencial imunológico e expressão gênica de lectinas em camarões *Penaeus vannamei* cultivados em águas oligohalinas e desafiados com o Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV) / Jhonatas Teixeira Viana. – 2023.
78 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.
Coorientação: Prof. Dr. Rafael dos Santos Rocha.
1. Carcinicultura. 2. Imunidade inata. 3. Virose. 4. Imunorregulação. I. Título.

CDD 639.2

JHONATAS TEIXEIRA VIANA

POTENCIAL IMUNOLÓGICO E EXPRESSÃO GÊNICA DE LECTINAS EM
CAMARÕES *Penaeus vannamei* CULTIVADOS EM ÁGUAS OLIGOHALINAS E
DESAFIADOS COM O VÍRUS DA MIONECROSE INFECCIOSA (IMNV)

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

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Luiz Fagner Ferreira Nogueira
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Dra. Tallita Cruz Lopes Tavares Normando
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao professor Manuel Antonio de Andrade
Furtado Neto (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente à minha mãe, Rogeane, e ao meu irmão, Davi, pelo apoio incondicional, pelos momentos de confraternização e união, pelos bons conselhos e por compartilharem de minhas realizações e alegrias.

Aos colegas de laboratório, pelos momentos de descontração e companhia na bancada: Endrel, Giselle, Graça, Hudson, Ingrid, Juliana Gaeta, Karen, Maiara, Miguel e Raquel. E especialmente aos amigos que se tornaram uma família do coração: Alvaro, Cibele, Juliana Freitas, Rafael e Vilany. Sem o apoio de vocês, dentro e fora da Universidade, com certeza seria impossível chegar até aqui.

Ao professor Rodrigo, por me receber no CEDECAM ainda na graduação e por aceitar seguir com a missão de me orientar no mestrado. Agradeço também pela autonomia, confiança e incentivo às minhas pesquisas e projetos.

Ao doutor Rafael, agradeço por ser um pesquisador excepcional e, mais do que isso, um amigo. Agradeço pelos inúmeros conselhos, por todo o auxílio e pelas valiosas lições sobre uma ciência prática, exequível e aplicável. Sua ajuda foi inestimável para que esse trabalho se tornasse real.

Ao professor Alexandre, agradeço por ter me concedido experiências acadêmicas únicas e que geram bons frutos até hoje, a exemplo do presente trabalho. Agradeço ainda por ser, para mim, uma inspiração científica e pelas valiosas contribuições dadas à dissertação.

À doutora Tallita e ao professor Rubens pela disponibilidade e solicitude em participar da banca avaliadora, trazendo contribuições e visões que certamente aprimoraram o trabalho.

Ao doutor Fagner, agradeço por me recepcionar no CEDECAM, me apresentar ao que hoje é meu objeto de estudo e pelos valiosos ensinamentos de bancada. Agradeço também pelas inestimáveis sugestões que ajudaram a lapidar o presente trabalho desde a qualificação.

Agradeço também a todos que possibilitaram a realização desse trabalho por meio da doação de materiais, insumos e serviços. Manifesto aqui minha mais sincera gratidão a Alvaro e Vilany, pela ajuda no projeto e na montagem do sistema experimental; Daniel Ricarte e Flávio Ferreira, pela doação dos camarões; Igor Melo, representante da Polinutri, por fornecer a ração; Oliver Povareskim, representante da FishAirO₂, pela oferta das mídias biológicas; e Caio Holanda, representante da Escama Forte, pela disponibilização do oxigênio em pó utilizado no transporte dos animais. Agradeço ainda ao CEDECAM que, por meio do PROAQUA, disponibilizou todos os reagentes, insumos e equipamentos laboratoriais

necessários. O presente trabalho só foi viável por intermédio de todos vocês e serei eternamente grato quanto a isso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Além disso, a pesquisa foi parcialmente financiada também pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“O maior inimigo do conhecimento não é a
ignorância, mas a ilusão do conhecimento”.
(Daniel Boorstin)

RESUMO

A carcinicultura é um dos setores da aquicultura que mais tem crescido nos últimos anos, com notável destaque para a espécie *Penaeus vannamei*. Contudo, o cultivo de camarões é ameaçado por doenças das mais diversas origens, incluindo as virais, como é o caso da mionecrose infecciosa (IMN), que afeta a carcinicultura brasileira desde o início dos anos 2000. Muitos pesquisadores, observando as necessidades do setor, propõem estudos sobre a imunologia dos animais, a fim de compreender melhor os mecanismos de resposta do organismo frente a situações de estresse imunológico. Nesse contexto, podemos destacar as lectinas, proteínas com afinidade por carboidratos e glicoproteínas. Devido suas características estruturais, as lectinas são capazes de reconhecer patógenos específicos por meio da interação com padrões moleculares, atuando em diferentes vias de reconhecimento e sinalização para a eliminação de microrganismos. O presente trabalho se propôs, primordialmente, a avaliar a expressão gênica diferencial de cinco lectinas imunológicas (*LvLdlrCTL*, *LvCTL4*, *LvCTL5*, *LvAV* e *LvCTLU*) em camarões *P. vannamei* infectados experimentalmente com o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), a fim de entender melhor o funcionamento do sistema imune dos camarões e o papel das lectinas nesse processo. O experimento desenvolvido avaliou a expressão diferencial entre camarões infectados e não infectados por IMNV (50 µL, 10⁴ cópias de IMNV/µL), utilizando amostras do hepatopâncreas, brânquias, intestino e hemolinfa. Os animais foram coletados em intervalos de 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72 e 96 horas pós injeção (hpi), a fim de avaliar a expressão ao longo do tempo em diferentes tecidos, usando os genes *β-actina* e *EF-1α* como normalizadores. Aliados a isto, foram empregadas técnicas bioinformáticas para caracterizar e elucidar prováveis aspectos estruturais e bioquímicos relacionados às atividades imunológicas; e a contagem total de hemócitos, para relacionar a ação das lectinas com possíveis efeitos celulares. Foi observado que cada lectina apresenta um perfil único de expressão, sendo também diferente para cada tecido analisado. Hepatopâncreas e brânquias foram considerados os melhores tecidos para avaliar a expressão diferencial de lectinas imunológicas, sendo *LvLdlrCTL* e *LvCTL5* as lectinas com os resultados mais significativos. A *LvLdlrCTL* teve sua expressão regulada positivamente em torno de 28 vezes, o que, de acordo com seus aspectos estruturais, deve-se possivelmente a presença de um domínio receptor de lipoproteínas de baixa densidade e a abundância de modificações pós-traducionais envolvidas nesse processo. Já *LvCTL5* apresentou sobreposição de picos de expressão junto a maioria das demais lectinas analisadas, bem como na contagem total de hemócitos em camarões infectados, levando a crer que a mesma possui ação recrutadora de hemócitos e atividade imunorreguladora em cascatas imunológicas.

Dito isso, concluímos que as lectinas imunológicas do *P. vannamei* atuam durante infecções pelo IMNV, principalmente LvLdlrCTL e LvCTL5, tendo sua expressão regulada especialmente no hepatopâncreas e nas brânquias. Os dados sugerem ainda que essas lectinas atuam em vias de imunorregulação e recrutamento de hemócitos; e que, provavelmente, os aspectos estruturais da LvLdlrCTL favorecem sua ação imunológica.

Palavras-chave: carcinicultura; imunidade inata; virose; imunorregulação.

ABSTRACT

Shrimp farming is one of the sectors of aquaculture that has grown the most in recent years, with notable focus on the species *Penaeus vannamei*. However, shrimp farming is impacted by diseases of the most diverse etiologies, including viral pathogens, as is the case of infectious myonecrosis (IMN), which has affected Brazilian shrimp farming since the early 2000s. Many researchers, observing the needs of shrimp farming, propose studies on the immunology of animals, in order to better understand the mechanisms of the organism's response to situations of immunological stress. In this context, we can highlight lectins, proteins with affinity for carbohydrates and glycoproteins. Due to their structural characteristics, lectins are capable of recognizing specific pathogens through interaction with molecular patterns, acting in different recognition and signaling pathways for the elimination of microorganisms. The present work aimed, primarily, to evaluate the differential gene expression of five immunological lectins (*LvLdlrCTL*, *LvCTL4*, *LvCTL5*, *LvAV* and *LvCTLU*) in *P. vannamei* shrimp experimentally infected with the infectious myonecrosis virus (IMNV), in order to understand the functioning of the shrimp's immune system and the role of lectins in this process. The developed experiment evaluated the differential expression between shrimp infected and not infected by IMNV (50 μ L, 10^4 copies of IMNV/ μ L), using samples from the hepatopancreas, gills, intestine and hemolymph. The animals were sampled at intervals of 0, 4, 8, 12, 24, 48, 72 and 96 hours post injection (hpi), in order to evaluate the differential expression along time in different tissues, using the β -actin and *EF-1 α* genes as normalizers. Added to this, we employed bioinformatics analysis to characterize and elucidate probable structural and biochemical aspects related to immunological activities; and the total hemocytes count, to relate the action of lectins with possible cellular effects. It was observed that each lectin has a unique expression profile, which is also different for each analyzed tissue. Hepatopancreas and gills were considered the best tissues to evaluate the differential expression of immunological lectins, with *LvLdlrCTL* and *LvCTL5* being the lectins with the most significant results. *LvLdlrCTL* had its expression up-regulated around 28 times and possibly the presence of low-density lipoprotein receptor domain and the abundance of post-translational modifications are involved in this process. *LvCTL5*, on the other hand, showed overlapping expression peaks with most of the other lectins analyzed, as well as in the belief that it has hemocytes recruiting action and immunoregulatory activity in immunological cascades. To, we conclude that the immunological lectins in *P. vannamei* act during IMNV infections, mainly *LvLdlrCTL* and *LvCTL5*, having their expression regulated especially in the hepatopancreas and gills. The results also suggest that these lectins act in

immunoregulation and hemocytes recruitment pathways; and, probably, the structural aspects of LvLdlrCTL favor its immunological action.

Keywords: shrimp farming; innate immunity; viruses; immunoregulation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Carcinicultura brasileira	16
2.2	<i>Penaeus vannamei</i>	17
2.3	Enfermidades virais na carcinicultura brasileira	18
2.4	Vírus da mionecrose infecciosa (IMNV)	19
2.5	Sistema imunológico de camarões	22
2.6	Lectinas imunológicas em camarões peneídeos	24
2.7	Lectinas imunológicas do camarão <i>Penaeus vannamei</i>	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	Obtenção dos animais e construção do sistema experimental	31
3.2	Preparação dos extratos teciduais	32
3.3	Análise bioinformática	33
3.4	Desafio experimental	35
3.5	Coleta de hemolinfa e contagem total de hemócitos (CTH)	35
3.6	Extração de RNA e síntese de cDNA	36
3.7	Quantificação do IMNV por RT-qPCR	36
3.8	Análise da expressão gênica	37
3.9	Análises estatísticas	38
4	RESULTADOS	39
4.1	Preparo dos extratos teciduais	39
4.2	Análise bioinformática	40
4.2.1	<i>Análise de estruturas primárias</i>	40
4.2.2	<i>Análise de estruturas secundárias</i>	40
4.2.3	<i>Caracterização funcional</i>	41
4.2.4	<i>Predição de sítios de glicosilação</i>	41
4.2.5	<i>Predição de sítios de fosforilação</i>	44
4.2.6	<i>Predição de arquitetura molecular</i>	46
4.2.7	<i>Predição de sítios de clivagem de propeptídeos</i>	46
4.2.8	<i>Anotação funcional e predição de vias metabólicas</i>	46
4.3	Contagem total de hemócitos (CTH)	47

4.4	Análise da expressão gênica	47
4.4.1	<i>Expressão gênica no hepatopâncreas</i>	47
4.4.2	<i>Expressão gênica nas brânquias</i>	49
4.4.3	<i>Expressão gênica no intestino</i>	50
4.4.4	<i>Expressão gênica na hemolinfa</i>	51
5	DISCUSSÃO	53
5.1	Análise bioinformática	53
5.2	Contagem total de hemócitos (CTH)	54
5.3	Análise da expressão gênica	56
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura é a atividade que mais tem contribuído para o desenvolvimento da aquicultura mundial nos últimos anos (FAO, 2022). Por definição, essa cultura se destina à criação de crustáceos e, no Brasil, tem sua maior expressividade com o cultivo do camarão marinho *Penaeus vannamei*, espécie que reúne diversos atributos de interesse zootécnico, como rusticidade, conversão alimentar satisfatória e boa adaptação a dietas artificiais (ABCC, 2001, 2017; GAA, 2019).

Apesar das boas perspectivas para o aprimoramento da carcinicultura no Brasil e no mundo, sua expansão é seriamente ameaçada por enfermidades que se instalam nos cultivos, especialmente as enfermidades de etiologia viral (ASCHE *et al.*, 2020; FLEGEL, 2019). A Organização Mundial para a Saúde Animal (WOAH, do inglês *World Organisation for Animal Health*) considera algumas patologias como de notificação obrigatória, pelo seu potencial em prejudicar economicamente grandes culturas, como é o caso da mionecrose infecciosa (IMN) (WOAH, 2022a).

A IMN foi originalmente descoberta em surtos ao camarão cultivado *P. vannamei* no nordeste do Brasil (POULOS *et al.*, 2006) e caracteriza-se pela necrose do músculo estriado, opacidade dos segmentos abdominais, redução no consumo alimentar, nado desorientado, amolecimento do exoesqueleto e, por fim, mortalidade em massa dos indivíduos (NUNES; MARTINS; GESTEIRA, 2004; SUNARTO; NAIM, 2016). Atualmente, o vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), agente causador da IMN, é oficialmente registrado e considerado endêmico no Brasil e na Indonésia (PRASAD *et al.*, 2017).

O IMNV caracteriza-se por ser um vírus não envelopado, de formato icosaédrico e de aproximadamente 40 nm de diâmetro (POULOS *et al.*, 2006; TANG *et al.*, 2008). Até o presente momento, apenas nove sequências referentes ao genoma completo do IMNV foram depositadas no *Genbank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), apresentando aproximadamente 8,2 kbp (ANDRADE *et al.*, 2022; MAI *et al.*, 2019) que são divididos em dois quadros de leitura aberta (*Open Reading Frame*, ORF) sobrepostos entre si (DANTAS *et al.*, 2015). O alinhamento de sua região mais conservada, a ORF2, tem incluído o IMNV como membro da família *Totiviridae* (LIMA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Em parte, a alta sensibilidade dos camarões aos agentes virais deve-se ao fato de o seu sistema imunológico ser mais simples que o dos vertebrados superiores, contando apenas com as respostas de origem inata (FLEGEL, 2020; ROY *et al.*, 2020). Em decorrência da ausência de um sistema imune adaptativo (ou adquirido), os camarões não possuem anticorpos

e, conseqüentemente, também não possuem memória imunológica (KULKARNI *et al.*, 2021; LOW; CHONG, 2020). As respostas inatas, com as quais o *P. vannamei* conta, são divididas em dois grandes grupos que, embora atuem de forma intimamente integrada, possuem vias de ativação e ação distintas: as respostas humorais e as de natureza celular (AWEYA *et al.*, 2021; GIANAZZA *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2020).

A porção celular das respostas inatas do *P. vannamei* se baseia na produção e no recrutamento de hemócitos, células imunocompetentes presentes na maioria dos invertebrados (JIRAVANICHPAISAL; LEE; SÖDERHÄLL, 2006; LIU *et al.*, 2020). A resposta humoral, por sua vez, é definida como a parcela das respostas imunológicas conferida por moléculas antimicrobianas dispersas na hemolinfa do animal, como as lectinas (ROY *et al.*, 2020; SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2017). Vale ressaltar que muitas dessas moléculas antimicrobianas, a exemplo das lectinas, se comportam como proteínas de reconhecimento de padrões (PRPs), atuando diretamente na sinalização e ativação de cascatas imunológicas (SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2021; WANG; WANG, 2013b).

As lectinas podem ser, de maneira breve, definidas como proteínas com capacidade de reconhecer e se ligar específica e reversivelmente a carboidratos e estruturas de natureza glicídica (SHARON; LIS, 2004; VASTA; AHMED, 2008). Tal habilidade torna as lectinas capazes de reconhecer, de forma humoral, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen associated molecular patterns*) (SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2017). Na superfície celular de bactérias, fungos, vírus e outros microrganismos, pode-se facilmente encontrar complexos moleculares à base de peptidoglicanos, lipopolissacarídeos e glicoproteínas, que por sua vez atuam como PAMPs (LU *et al.*, 2020; WANG; VASTA; WANG, 2020). Essas estruturas químicas, que auxiliam no arranjo celular e estrutural dos patógenos, funcionam como uma assinatura molecular passível de reconhecimento pelas lectinas, desencadeando, a partir dessa interação, cascatas imunológicas para a ativação de respostas celulares e humorais que conferem proteção ao animal (DEVI; BASILROSE; MERCY, 2010; WANG; WANG, 2013a).

Em camarões peneídeos, as pesquisas sobre as funções imunológicas das lectinas se intensificaram a partir dos anos 2000, concentrando-se em espécies de importância econômica, principalmente para a Ásia, como *Marsupenaeus japonicus*, *Penaeus monodon* e *Litopenaeus setiferus* (WANG; WANG, 2013a). Até o presente momento, vinte lectinas com atividade imunológica já foram descritas para o *P. vannamei*, sendo LvLT a primeira delas, descrita apenas em 2007, por Ma *et al.* (2007) que, dentre outros resultados, observaram que

essa lectina tinha sua expressão regulada diferencialmente na presença do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV).

Ensaio de expressão gênica têm se mostrado uma importante ferramenta para a investigação de genes durante estímulos fisiológicos que, no caso de genes imunológicos, se resumem a lesões, infecções e condições de estresse ambiental (ROMERO; RUVINSKY; GILAD, 2012). No caso de desafios experimentais com agentes virais, a expressão gênica auxilia na elucidação do processamento da informação genética envolvida na interação patógeno-hospedeiro, dos níveis de reação do sistema imunológico e as moléculas envolvidas em resposta a infecções específicas (JI; YAO; WANG, 2009; WANG; VASTA; WANG, 2020).

Partindo desse princípio, tal abordagem se faz importante para os setores acadêmico e produtivo, uma vez que traz novas informações sobre os processos fisiológicos do próprio organismo frente a infecções de interesse econômico, possibilitando assim a idealização de novos manejos, técnicas e produtos que se utilizam dessas informações para aplicações práticas destinadas ao setor produtivo.

Dito isso, a hipótese do presente trabalho é de que lectinas imunológicas atuam, em camarões *P. vannamei*, em resposta à infecção pelo vírus da mionecrose infecciosa (IMNV). E, para tanto, o objetivo geral do presente estudo foi avaliar a participação das lectinas por meio de parâmetros imunológicos em camarões *P. vannamei* infectados experimentalmente com o IMNV. Como objetivos específicos, estipulou-se (1) caracterizar as lectinas alvo do estudo utilizando ferramentas de bioinformática e identificar possíveis padrões estruturais relacionadas à ação antiviral; (2) avaliar a expressão de cinco genes lectínicos (*LvLdlrCTL*, *LvCTL5*, *LvCTL4*, *LvAV* e *LvCTLU*), após infecção por IMNV, em diferentes tecidos ao longo do tempo; e (3) observar o efeito da infecção por IMNV na imunidade celular por meio da contagem total de hemócitos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Carcinicultura brasileira

A carcinicultura é definida como a criação de crustáceos em um ambiente confinado e com fins econômicos, englobando assim espécies como siris, caranguejos, lagostas, lagostins e camarões (FAST; LESTER, 1992). Segundo dados da FAO (2022), a carcinicultura é um dos principais ramos da aquicultura moderna, ultrapassando o comércio de camarões pescados e movimentando anualmente bilhões de dólares em todo o globo.

Além da forte vertente econômica, a carcinicultura também é responsável por significativas contribuições sociais e ambientais, ao passo que gera empregos diretos e indiretos em todos os elos da cadeia produtiva e reduz a pressão sobre os estoques pesqueiros naturais (ABCC, 2012; CAMARGO; ROUBACH, 2022; NATORI *et al.*, 2011). Em muitos casos, a carcinicultura é responsável por desenvolver polos gastronômicos e turísticos, fomentados pela concentração e intensificação da atividade produtiva, a exemplo da Costa Negra, no litoral Oeste do Ceará (LOPES *et al.*, 2019).

No Brasil, a carcinicultura teve seus primeiros passos na década de 1970, quando o Governo Estadual do Rio Grande do Norte criou o chamado “Projeto Camarão” e introduziu no Estado a espécie exótica *Penaeus japonicus* (ABCC, 2001). Apesar dos aportes financeiros e incentivos governamentais, a falta de um pacote tecnológico consolidado e a incompatibilidade da espécie com o clima local impossibilitaram a continuidade da atividade nesse primeiro momento (MOLES; BUNGE, 2002). A segunda fase da carcinicultura brasileira é marcada pelas tentativas de domesticação de espécies nativas, com a expectativa de uma boa adaptação às variações climáticas locais e vide o apelo comercial já existente (NUNES; MADRID; ANDRADE, 2011). As principais espécies exploradas nesse período foram *Litopenaeus subtilis*, *L. paulensis* e *L. schimitti* (ABCC, 2001). Aproveitando-se da experiência adquirida com a espécie *P. japonicus*, a segunda fase também se caracteriza por um maior nível tecnológico, aprimorando principalmente as etapas de maturação e larvicultura (ABCC, 2001).

Em meados da década de 1980, introduziu-se na carcinicultura brasileira o camarão *P. vannamei*, conhecido popularmente como “camarão-cinza” ou “camarão-branco”, espécie responsável por alavancar a carcinicultura não só nacional, mas também mundialmente (ABCC, 2017). Por unir diversos atributos favoráveis ao cultivo, somados ao desenvolvimento de pacotes tecnológicos específicos, o camarão *P. vannamei* persiste até hoje como a principal espécie da carcinicultura brasileira (CAMARGO; ROUBACH, 2022). Entre 1998 e 2003, a

carcinicultura nacional teve seu ápice de expansão, ultrapassando a marca de 60% de crescimento/ano, declinando após surtos de enfermidades virais entre 2002 e 2005 e ações relacionadas ao comércio exterior (NATORI *et al.*, 2011).

Após sucessivos anos de déficit de produção ocasionados pelas enfermidades, a carcinicultura vem se recuperando progressivamente (ABCC, 2022; IBGE, 2018, 2019). Em 2020, a produção nacional de camarão cultivado totalizou 63,2 mil toneladas, montante 14,1% superior ao ano anterior o que, em termos monetários, representou uma valorização de 9,3% para o mesmo período (IBGE, 2019, 2020).

Atualmente, a carcinicultura brasileira tem mais de 99,0% de sua produção oriunda do Nordeste, provenientes principalmente dos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará (ABCC, 2022; IBGE, 2020). Como estratégia de ampliação da área explorável, muitos produtores têm investido nos cultivos em águas continentais de baixa salinidade, especialmente em condições oligohalinas (1,0 - 4,0 g/L) e mesohalinas (4,0 – 15,0 g/L) (SÁ; CAVALCANTE; LIMA, 2019). Com isso, a carcinicultura tem ganhado cada vez mais espaço no cenário de produção nacional, atraindo investidores e consumidores.

2.2 *Penaeus vannamei*

O camarão *Penaeus vannamei*, conhecido popularmente como “camarão-branco” ou “camarão-cinza”, é uma espécie nativa do Oceano Pacífico (ITIS, 2022). Porém, por seus atributos biológicos e seu alto desempenho zootécnico, pode ser encontrada em todo o globo abastecendo produções aquícolas e/ou mercados consumidores (SANTOS; MENDES, 2007; SOUSA-JÚNIOR; TEIXEIRA; LIMA, 2007). Sua ocorrência natural se distribui do Norte peruano ao Golfo da Califórnia, habitando águas quentes (>20 °C) e em diferentes profundidades (PÉREZ-FARFANTE; KENSLEY, 1997).

Em termos taxonômicos, a espécie se enquadra na classe Malacostraca, ordem Decapoda e na família Penaeidae. Além disso, estudos genéticos recentes propuseram sua realocação taxonômica ao gênero *Penaeus*, sendo anteriormente classificado como *Litopenaeus vannamei* (ITIS, 2022; YANG *et al.*, 2023). Já em termos zootécnicos, o camarão *P. vannamei* se configura como o principal peneídeo cultivado, sendo, desde 2018, responsável por mais da metade de toda a produção de crustáceos no mundo (FAO, 2020). Quando comparado a outros camarões, o camarão *P. vannamei* se mostra uma espécie rústica, somando características como boa tolerância a variações ambientais, exigência moderada por proteína bruta, boa aceitação de dietas artificiais, ótima taxa de conversão alimentar e aceitação pelo mercado consumidor

(ABCC, 2001, 2017; NUNES; ROCHA, 2015). Tais particularidades contribuíram para o sucesso na domesticação da espécie e para a expansão dos cultivos, migrando da tradicional região litorânea em direção ao sertão central de águas oligohalinas (ABCC, 2017; NUNES, 2001).

O camarão *P. vannamei* foi introduzido na carcinicultura brasileira em meados dos anos 1980 e, em menos de uma década, houve significativos avanços no desenvolvimento tecnológico para o cultivo da espécie (ABCC, 2017; NUNES; ROCHA, 2015). Com o incentivo da iniciativa privada, no início da década de 1990 já havia a consolidação de laboratórios de larvicultura e maturação, além de pesquisas dedicadas à nutrição e melhoramento genético da espécie (ABCC, 2017). Arelado à abundância hídrica e área explorável, o camarão-branco possibilitou o alavancar da carcinicultura brasileira e persiste como a principal espécie cultivada em território nacional até os dias atuais (IGARASHI, 2022).

Todavia, com o surgimento de algumas enfermidades, em especial a síndrome da mancha branca (WSS, do inglês *white spot syndrome*) e a IMN, a produção nacional de camarão registrou uma queda histórica, o que impulsionou novas pesquisas e o aprimoramento das boas práticas de manejo (BPM) nas fazendas (MADRID, 2005; NUNES; MADRID; ANDRADE, 2011). Na última década, registrou-se grandes avanços no conhecimento científico e técnico a respeito da espécie *P. vannamei*, possibilitando assim o resgate do potencial produtivo nacional (CAMARGO; ROUBACH, 2022).

2.3 Enfermidades virais na carcinicultura brasileira

O estabelecimento de um processo infeccioso depende do desequilíbrio entre três elementos: hospedeiro, patógeno e ambiente (ENGERING; HOGERWERF; SLINGENBERGH, 2013). Entende-se por equilíbrio quando os três elementos estão em suas respectivas plenitudes, isto é, o hospedeiro em perfeito estado fisiológico, imunológico, nutricional e genético; o patógeno em concentrações normais no meio, sem indutores de mutações ou cepas anormais; e o ambiente em boas condições de preservação, não poluído e com disponibilidade de recursos bióticos e abióticos essenciais (HEDRICK, 1998).

Na aquicultura, pode-se entender o hospedeiro como sendo os animais cultivados; os patógenos como os próprios agentes etiológicos, por exemplo: bactérias, fungos, vírus e protozoários; e o ambiente como o espaço de confinamento e cultivo (FERREIRA *et al.*, 2021). Dessa forma, as BPM se apresentam como ferramentas importantes para a prevenção e controle de enfermidades, mantendo o equilíbrio hospedeiro-patógeno-ambiente (ABCC, 2014).

Dos agentes patológicos que ocorrem nas fazendas de produção aquícola, os vírus são considerados os de maior impacto econômico (FLEGEL, 2019). Atualmente, a WOAH classifica sete viroses que acometem crustáceos como doenças de notificação obrigatória a nível internacional, são elas: Infecção hipodermal e necrose hematopoiética (IHHN, do inglês *infectious hypodermal and haematopoietic necrosis*), doença da cauda branca, doença dos hemócitos iridescentes, síndrome de Taura, mionecrose infecciosa (IMN), síndrome da mancha branca (WSS) e a doença da cabeça amarela, devido ao alto potencial de causar prejuízos econômicos em escala global (WOAH, 2022a).

Em território brasileiro, três dessas sete enfermidades recebem maior destaque, citadas adiante em ordem cronológica de registro oficial: IHHN (relatada inicialmente em 1991) (BUENO, 1991), IMN (no ano de 2002, no Estado do Piauí) (LIGHTNER *et al.*, 2004) e a WSS (em 2004, em Santa Catarina) (SEIFFERT; WINCKLER; MAGGIONI, 2005). Destas, a IMN é considerada uma doença endêmica, onde seu primeiro registro mundial foi feito em território brasileiro (NUNES; MARTINS; GESTEIRA, 2004).

Entre os anos de 2002 e 2005, em torno dos primeiros surtos de IMN e WSS, as enfermidades virais foram responsáveis por mais de 70% das perdas nacionais de produção de camarão, gerando impactos financeiros na casa de milhões de dólares (LIGHTNER *et al.*, 2012; NEVES; MARTINS, 2021). Entretanto, com o investimento em pesquisas sobre melhoramento genético para linhagens resistentes, aditivos nutricionais e protocolos de manejo e biossegurança, a produção nacional vem contornando a problemática das enfermidades e recuperando, ano após ano, os patamares produtivos do início dos anos 2000 (ABCC, 2022; IBGE, 2019, 2020).

2.4 Vírus da mionecrose infecciosa (IMNV)

O vírus da mionecrose infecciosa (IMNV) é o agente causador da mionecrose infecciosa (IMN), enfermidade essa que se configura como uma das principais viroses de crustáceos em todo o mundo (PRASAD *et al.*, 2017; WOAH, 2022a). O primeiro registro da IMN foi realizado no Estado do Piauí, no ano de 2002, em fazendas de cultivo, e inicialmente era conhecida por Necrose Idiopática Muscular (NIM), uma vez que não se conhecia o agente etiológico responsável pelos surtos (NUNES; MARTINS; GESTEIRA, 2004). Posteriormente, com o auxílio de estudos genéticos, identificou-se o IMNV e a patologia foi, conseqüentemente, renomeada para mionecrose infecciosa (LIGHTNER *et al.*, 2004; POULOS *et al.*, 2006).

Após ser identificado no Piauí, rapidamente o IMNV se alastrou para os demais Estados do Nordeste e, em 2006, para a Indonésia (SENAPIN *et al.*, 2007). Acredita-se que a doença chegou ao novo continente por meio da exportação indevida de camarões reprodutores infectados, com a finalidade de renovar plantéis indonésios (PRASAD *et al.*, 2017). Hoje, a IMN é registrada oficialmente pela WOAAH como endêmica aos dois países (WOAH, 2022a). A IMN também já foi relatada, mas de forma não oficial, em outros países, como Índia (HAMEED *et al.*, 2017) e Egito (ALY *et al.*, 2021).

Ao surgir no Nordeste brasileiro, o IMNV encontrou um setor despreparado para o cenário de convívio com enfermidades, utilizando protocolos de cultivo com altas densidade de estocagem, povoamentos diretos, lotes com baixa variabilidade genética, pouco ou nenhum uso de probióticos e oferta de rações não tão específicas às exigências nutricionais do *P. vannamei* (FONSECA; ROCHA, 2004; NEVES; MARTINS, 2021). Dessa forma, entre os anos de 2003 e 2006, estima-se que a IMN tenha causado prejuízos de aproximadamente US\$ 100 milhões à economia brasileira, somando prejuízos ainda maiores nos anos posteriores com a ocorrência em território indonésio (LIGHTNER *et al.*, 2012).

Em termos estruturais, o IMNV apresenta um diâmetro aproximado de 40 nm, organizado em uma morfologia icosaédrica não envelopada (POULOS *et al.*, 2006). Atualmente, estão disponíveis, no *Genbank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), nove sequências completas de genoma para o IMNV, com tamanhos totais variando entre 7.561 e 8.230 pb (ANDRADE *et al.*, 2022; DANTAS *et al.*, 2015; NAIM *et al.*, 2015). O genoma do IMNV é constituído por uma molécula única de dsRNA (do inglês, *double-stranded RNA*), constituída por dois quadros de leitura aberta (ORFs, do inglês *open reading frames*) sobrepostos entre si por 199 nucleotídeos (5395 nt – 5596 nt) (DANTAS *et al.*, 2015). A ORF1, presente na extremidade 5', é composta por 5.127 nt que são traduzidos em um polipeptídeo de 1.708 aminoácidos (aa). Acredita-se que esse polipeptídeo passe por um processamento pós-traducional de sucessivas clivagens, resultando em quatro proteínas: a proteína principal do capsídeo (MCP, do inglês *major capsid protein*), uma proteína de ligação ao RNA (RBP, do inglês *RNA binding protein*) e duas proteínas relacionadas às protruções virais, chamadas de *small protein I* (SP1) e *small protein II* (SP2) (DANTAS, 2014). A ORF2, por sua vez, está localizada na porção 3' do genoma viral e é composta por 2.739 nt, carregando a informação genética para a tradução de uma RNA polimerase dependente de RNA (RdRp, do inglês *RNA-dependent RNA polymerase*) de 912 aa (DANTAS, 2014; SUNARTO; NAIM, 2016). Para fins filogenéticos, a região codante para a RdRp apresenta-se mais conservada entre os vírus, cujo

alinhamento e homologia permitiram enquadrar o IMNV como membro da família *Totiviridae* (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

De acordo com sua sintomatologia, a IMN pode ser monitorada em três níveis de diagnóstico (TAUKHID; NUR'AINI, 2008). O primeiro nível observa o comportamento e a aparência dos animais, atentando-se a sinais como letargia, natação errática, perda de equilíbrio, natação na superfície durante o dia, menor taxa de alimentação, opacidade focal ou multifocal no músculo estriado, vermelhidão nos segmentos abdominais e leque caudal, além do aumento da taxa de mortalidade (NUNES; MARTINS; GESTEIRA, 2004). No segundo nível, parte-se para o uso de técnicas histopatológicas, averiguando a presença de coágulos e edemas característicos para necrose muscular, e a formação de esferoides em tecidos como órgão linfóide, coração e hepatopâncreas. Adicionados a isso, pode-se observar ainda a liquefação do tecido muscular, comumente substituído por tecido conjuntivo; infiltrações hemocíticas, sinais de fibrose e hipertrofia do órgão linfóide (TANG *et al.*, 2005). O terceiro, e último nível, faz uso de informações moleculares para a identificação do patógeno, geralmente por meio de técnicas de PCR e suas variações (ANDRADE; LIGHTNER, 2009; ANDRADE *et al.*, 2007).

Epidemiologicamente, o IMNV pode ser disseminado tanto por via vertical, sendo transmitido diretamente dos reprodutores para os naúplios; como também de maneira horizontal, por meio de vetores, canibalismo e o compartilhamento de materiais de manejo entre viveiros (GRAF *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2015a, 2016). Como medidas de precaução, recomenda-se a aquisição de pós-larvas rigorosamente analisadas e a aplicação de um protocolo de manejo preventivo, eliminando fatores de risco (FONSECA; ROCHA, 2004). No ambiente de carcinicultura, os surtos de enfermidades estão intimamente relacionados ao estresse fisiológico desencadeado por variações ambientais, como flutuações de salinidade, temperatura e pH, oferta de alimentos de baixa qualidade, acúmulo de matéria orgânica e florações planctônicas (AHMED; THOMPSON; GLASER, 2019; MILLARD *et al.*, 2021; REID *et al.*, 2019). No caso do IMNV, sabe-se que condições de baixa salinidade e altas temperaturas favorecem sua replicação e prevalência (SILVA *et al.*, 2015b; VIEIRA-GIRÃO *et al.*, 2015), o que explica, no Nordeste brasileiro, a maior incidência de surtos durante a quadra chuvosa (VIEIRA-GIRÃO *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, surtos com altas taxas de mortalidade despertaram a curiosidade de cientistas da área, levantando a possibilidade da ocorrência de novas variantes virais para o IMNV em território brasileiro (VIANA *et al.*, 2022). Andrade *et al.* (2022) recentemente descreveram uma nova cepa, catalogada como MZ593846.1, isolada de surtos com mortalidades superiores a 80%. Somadas a essa, atualmente existem nove sequências completas

de genoma descritas para o IMNV, divididas entre cepas isoladas no Brasil e na Indonésia (DANTAS *et al.*, 2015; NAIM; BROWN; NIBERT, 2014). A existência de variantes virais faz com que um mesmo patógeno possa se manifestar de diferentes maneiras, modificando a forma de progressão da infecção e dificultando assim um diagnóstico preciso (VIANA *et al.*, 2022).

2.5 Sistema imunológico de camarões

O sistema imunológico dos camarões, diferentemente dos vertebrados, não apresenta resposta imune adaptativa, isto é, os camarões não apresentam anticorpos e memória imunológica (LITTLE; HULTMARK; READ, 2005). Como dependem exclusivamente das respostas de natureza inata, evolutivamente os crustáceos desenvolveram diversas outras estruturas e estratégias imunológicas (KULKARNI *et al.*, 2021).

A resposta imune inata é aquela conferida por células e moléculas antimicrobianas que atuam de forma inespecífica, agindo pelo reconhecimento e diferenciação do próprio (*self*) e do não-próprio (*non-self*) (AWEYA *et al.*, 2021). Nos camarões, podemos destacar dois níveis de barreiras que impedem a entrada e o estabelecimento de patógenos no hospedeiro. As primeiras barreiras são as físico-químicas, caracterizadas por serem mais externas, impedindo os patógenos de penetrarem nos tecidos do camarão e potencialmente desencadear uma infecção, são elas: cutícula quitinosa e muco que revestem o animal, o epitélio intestinal e as enzimas presentes no trato digestório (BARRACCO, 2004). Quando um patógeno perpassa o primeiro nível de barreiras, vai-se ao encontro da segunda linha de defesa, composta por elementos mais internos de imunidade, divididos entre fatores celulares e fatores humorais (HAUTON, 2012).

As respostas imunes de natureza celular se resumem àquelas que envolvem diretamente os hemócitos, células imunocompetentes que circulam livremente pela hemolinfa dos invertebrados (SÖDERHÄLL, 2016). Os hemócitos se dividem em três tipos principais: hemócitos hialinos, hemócitos semigranulares e hemócitos granulares (JOHANSSON *et al.*, 2000). Acredita-se que o nível de granulação dos hemócitos esteja relacionado com o grau de maturação da célula, sendo os hemócitos granulares os mais responsivos durante um processo infeccioso (LIU; LIU; LIU, 2021). Os hemócitos são ainda conhecidos por serem células de produção e estocagem de moléculas antimicrobianas, liberadas por gatilhos fisiológicos em um processo chamado de degranulação hemocítica (JI; YAO; WANG, 2009). De forma direta, as respostas celulares são a fagocitose, encapsulação, nodulação e coagulação (JIRAVANICHPAISAL; LEE; SÖDERHÄLL, 2006; LIU *et al.*, 2020). A fagocitose consiste

no englobamento e eliminação de microrganismos; já a encapsulação e a nodulação são formas de revestir patógenos maiores, ocasionando um estresse fisiológico e o bloqueio do patógeno em relação aos tecidos do hospedeiro (FREEMAN; GRINSTEIN, 2014; LIU *et al.*, 2020). A coagulação, por sua vez, é uma resposta mais abrangente, geralmente desencadeada após lesões e traumas na superfície do animal (JIRAVANICHPAISAL; LEE; SÖDERHÄLL, 2006). Vale salientar ainda que durante processos infecciosos há o recrutamento de hemócitos, isto é, há um aumento na produção dessas células pelo tecido hematopoiético e as mesmas são direcionadas, pela hemolinfa, aos tecidos infectados (SÖDERHÄLL, 2016).

De forma integrada às respostas celulares, os camarões se utilizam também de respostas humorais. Essas são desempenhadas por moléculas dispersas na hemolinfa, que atuam isoladamente ou em sinergismo, geralmente manifestando atividade antimicrobiana (GIANAZZA *et al.*, 2021). Entre as principais moléculas humorais presentes em camarões podemos citar as lisozimas, peroxinectinas, hemocianinas, transglutaminases, crustinas, peneidinas, fatores antilipopolissacarídeos, proteínas ligantes a β -1,3-glucano (β GBP, do inglês *β -1,3-glucan binding protein*), proteínas ligantes a lipopolissacarídeos (LBP, do inglês *lipopolysaccharide binding protein*), proteínas ligantes a β -1,3-glucano e lipopolissacarídeos (LGBP, do inglês *lipopolysaccharide and β -1,3-glucan binding protein*) e as lectinas (AWEYA *et al.*, 2021).

Boa parte das moléculas de defesa humoral são também classificadas como receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês *pattern recognition receptors*), grupo integrado principalmente pelos receptores *Toll-like*, receptores *Scavenger*, DSCAM (*down syndrome cell adhesion molecules*) e as lectinas (SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2021). Normalmente os patógenos apresentam, em sua superfície, complexos químicos padrões que integram sua estrutura, conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), como lipopolissacarídeos (LPS), β -1,3-glucanos (β G), ácido lipoteicóico (LTA), peptidoglicanos (PGN) e glicoproteínas (LU *et al.*, 2020). Tais arranjos químicos são passíveis de reconhecimento pelas PRRs que, a partir daí, liberam sinais para desencadear respostas humorais e celulares complementares (CHEN *et al.*, 2014).

A principal cascata imunológica entre os crustáceos é a de ativação da profenoloxidase (proPO, do inglês *prophenoloxidase*), uma proenzima inativa que, após uma série de reações bioquímicas, culmina em sua forma ativa, a fenoloxidase (CERENIUS; LEE; SÖDERHÄLL, 2008; CERENIUS; SÖDERHÄLL, 2004). A fenoloxidase (PO, do inglês *phenoloxidase*) é uma enzima chave para a ativação sistêmica das respostas imunológicas em crustáceos, atuando diretamente em todos os processos de resposta celular e indiretamente na

liberação de muitos dos fatores humorais, como quinonas, espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (AMPARYUP; CHAROENSAPSRI; TASSANAKAJON, 2013; JIRAVANICHPAISAL; LEE; SÖDERHÄLL, 2006; LOW; CHONG, 2020; ROY *et al.*, 2020).

Apesar dos crustáceos possuírem diversas vias de sinalização, ativação e respostas imunológicas, muitos autores defendem que determinadas moléculas possuem papel fundamental na regulação das interações moleculares envolvidas em tais processos (AWEYA *et al.*, 2021; KULKARNI *et al.*, 2021; MARQUES; BARRACCO, 2000; WANG; WANG, 2013b). Uma classe de moléculas chave que merece destaque é a das lectinas, uma vez que essas estão envolvidas em todas as esferas de defesa dos camarões, permeando por processos fisiológicos como a esclerotização (QIU *et al.*, 2021), equilíbrio da microbiota intestinal (ALENTON *et al.*, 2019), regulação da expressão de diversos genes imunológicos (HUANG *et al.*, 2021), ativação do sistema da proPO (RUBEENA; PREETHAM, 2019), recrutamento de hemócitos e indução da fagocitose (LI; PAN; YU, 2022).

2.6 Lectinas imunológicas em camarões peneídeos

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas que possuem como principal característica a habilidade de reconhecer e se ligar a carboidratos e estruturas glicídicas de forma específica e reversível (LAKHTIN; LAKHTIN; ALYOSHKIN, 2011). Por possuírem uma alta diversidade de arranjos estruturais, as lectinas são comumente classificadas, baseando-se em suas características bioquímicas, em famílias (KILPATRICK, 2002; VASTA; AHMED; ODOM, 2004). Uma das formas mais aceitas para a classificação das lectinas é atribuída pela homologia entre os domínios de reconhecimento de carboidratos (CRDs, do inglês *carbohydrate recognition domains*) dessas moléculas (ZELENSKY; GREADY, 2003, 2005). A especificidade da ligação lectina-carboidrato também é, em boa parte, definida pelo seu CRD e os cofatores a ele associados, o que torna esse tipo de classificação ainda mais fidedigno (GABIUS *et al.*, 2011).

Segundo Loh *et al.* (2017), as lectinas animais podem ser classificadas em quinze famílias principais, são elas: Lectinas do Tipo C, Tipo S (galectinas), Tipo P, Tipo I, Tipo F, Tipo M, Tipo L, Tipo R, pentraxinas, ligantes de heparina, calnexinas/calreticulinas, F-box, ficolinas, chilectinas e interlectinas. Contudo, até o presente momento, apenas sete dessas famílias foram relatadas em camarões peneídeos: Lectinas do Tipo C, Tipo L, Tipo P, Tipo M, galectinas, ficolinas e calnexinas/calreticulinas (JOHNSON *et al.*, 2022). Pela importância econômica dos camarões, a maior parte dos estudos com lectinas desse grupo se dedica a

prospectar atividades imunológicas frente patógenos de interesse à carcinicultura (DENIS *et al.*, 2016). Apesar da grande versatilidade desse grupo de proteínas, das atividades biológicas desenvolvidas por elas e da diversidade de camarões cultivados ao redor do mundo, as pesquisas nessa vertente só se intensificaram após os anos 2000, investigando principalmente espécies de interesse para o comércio asiático, como *Fenneropenaeus chinensis*, *Marsupenaeus japonicus*, *Penaeus monodon* e *Litopenaeus setiferus* (WANG; WANG, 2013a).

Nos últimos 20 anos houve, de forma geral, um alavancar no nível de produção científica sobre lectinas de crustáceos e, especificamente, de camarões, utilizando-se de diferentes técnicas, abordagens metodológicas e delineamentos experimentais (CABANSAG; LAZARO; YAMBOT, 2014; HUANG *et al.*, 2022; JUNKUNLO *et al.*, 2012). A massiva maioria dessas pesquisas investiga a atuação imunológica das lectinas, revelando a capacidade de desencadear cascatas moleculares para a ativação de respostas inatas tanto humorais como celulares (SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2017; WANG; WANG, 2013a).

Em princípio, todas as atividades imunológicas desencadeadas pelas lectinas são possíveis graças à interação estabelecida entre seus CRDs e estruturas glicídicas *self* e *non-self* (DAM; BREWER, 2009; GABIUS *et al.*, 2002). Ao se ligar a um carboidrato presente na superfície de um determinado agente patológico há a formação de um complexo proteína-ligante, aumentando a probabilidade de reconhecimento e a consequente fagocitose por parte dos hemócitos, efeito esse conhecido por opsonização (LIU *et al.*, 2020). A opsonização via lectinas já foi relatada em muitas espécies de camarões, como *P. monodon* (PmLec) (LUO *et al.*, 2006), *F. chinensis* (FcLec4) (WANG; ZHAO; WANG, 2014), *M. japonicus* (MjGCTL e MjLTL1) (ALENTON *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2014) e *P. vannamei* (LvLec) (ZHANG *et al.*, 2019b). Como os hemócitos são células com alto nível de produção e estocagem de diversas moléculas antimicrobianas (JI; YAO; WANG, 2009; SÖDERHÄLL, 2016), o recrutamento e o aumento da atividade fagocítica induzidos pelas lectinas promovem também uma modulação na expressão de alguns genes imunológicos, principalmente AMPs (do inglês, *antimicrobial peptides*; crustinas, peneidinas e fatores antilipopolissacarídeos) e até mesmo outras lectinas (LUO *et al.*, 2019).

As respostas celulares e humorais atuam de forma integrada para promover uma resposta sistêmica mais eficiente (KULKARNI *et al.*, 2021). Dito isso, o recrutamento hemocítico, além de modular a expressão de alguns genes, estabelece relação direta com cascatas enzimáticas, principalmente na ativação da proPO (AMPARYUP; CHAROENSAPSRI; TASSANAKAJON, 2013). Esse fenômeno foi observado em espécies como *Penaeus semisulcatus* (*Ps-Lec*) (SIVAKAMAVALLI; VASEEHARAN, 2014),

Metapenaeus dobsoni (Md-Lec) (RUBEENA; PREETHAM, 2019) e *P. vannamei* (LvCTLD) (JUNKUNLO *et al.*, 2012), onde as lectinas foram capazes de aumentar a melanização e a eliminação dos patógenos.

2.7 Lectinas imunológicas do camarão *Penaeus vannamei*

Embora haja uma diversidade relativamente alta de famílias de lectinas dentre os camarões peneídeos, até o momento apenas três famílias de lectinas foram relatadas para a espécie *P. vannamei*, são elas: Lectinas do Tipo C, Tipo L e galectinas (VIANA; ROCHA; MAGGIONI, 2022). Apesar da diversidade reduzida de famílias em relação ao grupo dos peneídeos, o camarão *P. vannamei* conta com uma alta quantidade de proteínas descritas e caracterizadas, totalizando vinte lectinas até o momento (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização básica dos aspectos bioquímicos e respostas imunológicas das lectinas do camarão *Penaeus vannamei*.

Família	Lectina	Genbank N°	Tamanho (aa)	Resposta a desafio experimental	Agglutinação	Referência
Tipo C	LVL	-	-	-	G ⁻	Sun <i>et al.</i> (2007)
Tipo C	LvLT	ABI97374	345	-	-	Ma <i>et al.</i> (2007)
Tipo C	LvLec	ABU62825	157	-	G ⁻	Zhang <i>et al.</i> (2009)
Tipo C	LvCTL1	DQ858900	156	WSSV	-	Zhao <i>et al.</i> (2009)
Tipo C	LvCTL-br	ADU25463	347	IHHNV	-	Costa <i>et al.</i> (2011)
Tipo C	LvLec1	-	169	WSSV	G ⁺ , G ⁻	Luo <i>et al.</i> (2011)
Tipo C	LvCTLD	AEH05998	311	YHV	-	Junkunlo <i>et al.</i> (2012)
Tipo C	LvLectin-1	ADW08726	156	<i>V. anguillarum</i>	-	Wei <i>et al.</i> (2012)
Tipo C	LvLectin-2	ADW08727	162	WSSV <i>V. anguillarum</i>	-	Wei <i>et al.</i> (2012)
Tipo C	LvCTL3	AGV68681	163	WSSV <i>V. parahaemolyticus</i>	G ⁺ , G ⁻	Li <i>et al.</i> (2014)
Tipo C	LvAV	AGC54451	176	WSSV	-	He <i>et al.</i> (2015)
Tipo C	LvCTL4	AKA64754	156	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	Li <i>et al.</i> (2015)
Tipo C	LvLdlrCTL	AYA22372	303	<i>V. parahaemolyticus</i>	G ⁺ , G ⁻ e fungos	Liang <i>et al.</i> (2019)
Tipo C	LvCTL5	QGA67284	171	WSSV <i>V. parahaemolyticus</i>	G ⁺ , G ⁻ e fungos	Luo <i>et al.</i> (2019)
Tipo C	LvCTLU	QGW58119	170	WSSV	G ⁺ , G ⁻	Song <i>et al.</i> (2019)
Tipo C	LvPLP	XP_027210459	179	-	G ⁻	Bi <i>et al.</i> (2020)

Tipo C	LvCTL 4.2	QZL13787	232	<i>V. parahaemolyticus</i>	G ⁺ , G ⁻	Huang <i>et al.</i> (2022)
Tipo C	LvCTL7	XM_027364912.1	166	<i>V. harveyi</i>	G ⁻	Luo <i>et al.</i> (2023)
Tipo L	LvLTLC1	ATP62320	329	<i>V. harveyi</i>	G ⁺ , G ⁻	Tian <i>et al.</i> (2018)
Galectina	LvGal	AGV04659	338	<i>V. anguillarum</i>	G ⁻	Cha <i>et al.</i> (2015)
				<i>V. alginolyticus</i>		

Fonte: O autor. aa, aminoácidos; G⁺, gram-positiva; G⁻, gram-negativa; WSSV, *white spot syndrome virus*; IHHNV, *infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus*; YHV, *yellow head virus*.

A grande maioria das lectinas do *P. vannamei* são do Tipo C, fato observado em muitos invertebrados (PEES *et al.*, 2016). As lectinas do Tipo C são assim agrupadas por terem sua atividade dependente de íons bivalentes, especialmente Ca²⁺ (BROWN; WILLMENT; WHITEHEAD, 2018; ZELENSKY; GREASY, 2005). O grupo das lectinas do Tipo L recebe essa nomenclatura por apresentar alta homologia com um grupo de lectinas caracteristicamente extraídas de leguminosas (ETZLER; SUROLIA; CUMMINGS, 2009). Já as galectinas, por sua vez, se reúnem por apresentarem alta afinidade por resíduos de β-galactosídeos (CUMMINGS; LIU, 2009; VASTA; WANG, 2020). A própria arquitetura proteica traz indícios da localização celular dessas moléculas, onde a maioria das lectinas do tipo C e a lectina do tipo L (LvLTLC1) apresentam, em sua extremidade, um peptídeo sinal, atuando como sinalizador pós-traducional para o transporte dessas proteínas rumo ao meio extracelular, onde as lectinas estarão disponíveis como fatores humorais de resposta rápida (OWJI *et al.*, 2018; RABOUILLE, 2017).

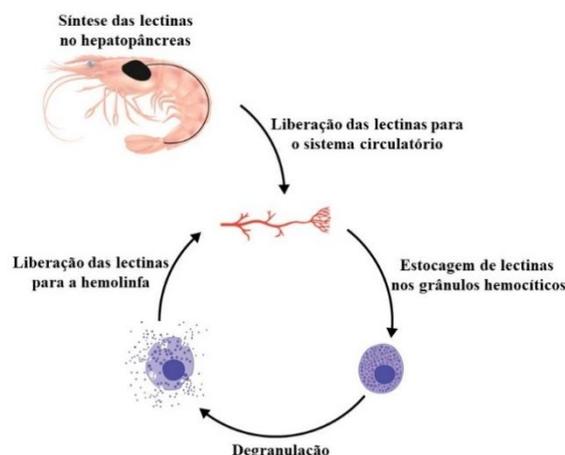
Por outro lado, apenas uma lectina do tipo C (LvCTLD) e a galectina (LvGal) não apresentam peptídeo sinal, sugerindo que essas proteínas permanecem indefinidamente na célula onde são produzidas e, assim, atuam em outras vias de sinalização (CHA *et al.*, 2015; JUNKUNLO *et al.*, 2012; LETUNIC; KHEDKAR; BORK, 2021). A anotação funcional de LvGal (<http://eggnog-mapper.embl.de/>) indica que provavelmente essa lectina participa de estruturas extracelulares; já a LvCTLD, em sua estrutura, apresenta uma sequência característica de regiões de transmembrana (HUERTA-CEPAS *et al.*, 2019; JUNKUNLO *et al.*, 2012). Esses resultados revelam que essas duas lectinas podem atuar como receptores e sinalizadores moleculares, atuando na comunicação entre os meios extra e intracelular (HOVING; WILSON; BROWN, 2014; SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2021).

Em artrópodes, o conhecimento científico sobre lectinas deriva principalmente dos insetos, onde as lectinas são produzidas majoritariamente pelos hemócitos e em segundo plano pelo corpo gorduroso (órgão análogo ao hepatopâncreas dos crustáceos) (MARQUES; BARRACCO, 2000; SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2017). Todavia, no *P. vannamei* essa

participação se inverte, já que o hepatopâncreas é o principal produtor e, em seguida, os hemócitos (WANG; WANG, 2013a).

Após a síntese pelo hepatopâncreas, acredita-se que as lectinas são liberadas para o meio extracelular, captadas pelos hemócitos e armazenadas no interior dos grânulos hemocíticos (DEVI; BASILROSE; MERCY, 2010; MARQUES; BARRACCO, 2000). Após um gatilho de estresse fisiológico, os hemócitos são recrutados e novamente liberam, por meio da degranulação, as lectinas para a hemolinfa, onde essas podem atuar como moléculas de defesa humoral (DEVI; BASILROSE; MERCY, 2010; JUNKUNLO *et al.*, 2012; MARQUES; BARRACCO, 2000). No caso das lectinas expressas diretamente pelos hemócitos, essas mesmas permanecem no interior celular até sua degranulação, seguindo os mesmos estímulos e rotas fisiológicas daquelas produzidas pelo hepatopâncreas (DEVI; BASILROSE; MERCY, 2010; MARQUES; BARRACCO, 2000). O esquema de síntese e rota de metabolização das lectinas no *P. vannamei* está ilustrado na Figura 1. Diversos outros tecidos e órgãos também mostram participação na expressão de lectinas no camarão *P. vannamei*, entre eles podemos destacar o cérebro, nervos, músculo, intestino, estômago, gônadas, coração, órgão linfóide e brânquias (BI *et al.*, 2020; JUNKUNLO *et al.*, 2012; LIANG *et al.*, 2019; SONG *et al.*, 2019; WEI *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2009). A maioria das lectinas apresenta expressão em mais de um órgão, embora os níveis de expressão sejam distintos entre eles; algumas, por outro lado, são expressas especificamente em um único órgão, geralmente o hepatopâncreas (LI *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2007; WEI *et al.*, 2012). Entretanto, uma das lectinas do *P. vannamei*, a LvCTL-br, segue um padrão diferente, sendo expressa unicamente nas brânquias (COSTA *et al.*, 2011).

Figura 1. Ilustração da síntese, estocagem e recrutamento das lectinas do camarão *Penaeus vannamei*.



Fonte: O autor.

O perfil de expressão multilocal sugere fortemente a participação dessas lectinas como moléculas humorais de recrutamento rápido ao reconhecimento do *non-self*, facilitando a ação sistêmica contra infecções (JI; YAO; WANG, 2009; LEU *et al.*, 2007; ROMERO; RUVINSKY; GILAD, 2012). Durante um processo infeccioso, o sistema imunológico do hospedeiro, estrategicamente, modula a expressão de diversos genes a fim de otimizar a produção de moléculas com atividade antimicrobiana, como as lectinas (HANCOCK; BROWN; MOOKHERJEE, 2006; LEU *et al.*, 2007). Dessa forma, as lectinas caracterizadas para o camarão *P. vannamei* foram averiguadas durante infecções experimentais, visando entender os mecanismos moleculares envolvidos na regulação dessas proteínas. A maioria dos trabalhos realizados investigaram a atuação das lectinas frente infecções pelo WSSV e bactérias do gênero *Vibrio* spp. (*V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi* e *V. alginolyticus*) (SÁNCHEZ-SALGADO *et al.*, 2017; WANG; WANG, 2013a); outros trabalhos, pontualmente, também observaram o comportamento de lectinas em infecções pelo vírus da IHHN, o vírus doença da cabeça amarela (YHV, do inglês *yellow head virus*), *Staphylococcus aureus* e por *Aspergillus niger* (COSTA *et al.*, 2011; JUNKUNLO *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2019).

Dentre as funções imunológicas desempenhadas pelas lectinas do *P. vannamei* pode-se destacar a indução da ativação do sistema proPO, exemplificadas pelas lectinas LvCTLD e LvLec (JUNKUNLO *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2019b). LvCTLD foi capaz de ativar a proPO tanto *in vivo* como *in vitro*, aumentando o nível de encapsulação e melanização por parte dos hemócitos (JUNKUNLO *et al.*, 2012). LvLec, por outro lado, parece induzir a liberação de PO pela via de sinalização *cGMP-dependent protein kinase*, influenciando indiretamente outras funções imunológicas (LI; PAN; YU, 2022). As lectinas do *P. vannamei* parecem também ter uma forte participação na regulação da expressão de outros genes. Após o silenciamento gênico da *LvCTL5*, observou-se um aumento significativo na expressão de peneidinas (*LvPEN2* e *LvPEN3*) e fatores antilipopolissacarídeos (*LvALF1*, *LvALF2*, *LvALF3* e *LvALF4*), além da diminuição da expressão de outras lectinas (*LvCTL3*, *LvLT* e *LvLec*), sugerindo diferentes vias de recrutamento entre as lectinas e os AMPs, revelando assim um possível caráter compensatório entre essas classes de moléculas (LUO *et al.*, 2019). Efeitos semelhantes foram percebidos após o silenciamento de outros genes codificantes de lectinas, como *LvGal*, *LvLdlrCTL* e *LvPLP*, onde houve a modulação da expressão de diversos AMPs, genes relacionados à fagocitose (*peroxinectin*, *mas-like protein* e *dynamain*) e vias de sinalização celular (*Domeless*, *c-JUN*, *Vago4* e *c-JNK*) (BI *et al.*, 2020; HOU *et al.*, 2015; LIANG *et al.*, 2019).

Um das principais habilidades conferidas às lectinas por meio de sua capacidade de reconhecer carboidratos na superfície celular de patógenos é a de promover a aglutinação dos mesmos, especialmente pelo reconhecimento de estruturas químicas como LPS, β G, LTA, PGN e glicoproteínas (MARQUES; BARRACCO, 2000; SHARON; LIS, 2004). Algumas lectinas do *P. vannamei* possuem um amplo espectro de reconhecimento, como LvLdlrCTL e LvCTL5, aglutinando bactérias G⁻ (Gram negativa) (*V. parahaemolyticus*), bactérias G⁺ (Gram positiva) (*S. aureus*) e fungos (*A. niger*) (LIANG *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2019). Outras lectinas, por sua vez, possuem um espectro de reconhecimento menor, como LvPLP e LvGal, que foram capazes de aglutinar apenas bactérias G⁻ (*Vibrio* spp.) (BI *et al.*, 2020; HOU *et al.*, 2015); e LvLec, capaz de aglutinar apenas células bacterianas G⁺ (*Escherichia coli*) (ZHANG *et al.*, 2019b).

Algumas lectinas do *P. vannamei* foram capazes ainda de ativar mecanismos para auxiliar no reconhecimento e eliminação de partículas virais. A LvCTL1, por exemplo, foi capaz de interagir com proteínas estruturais do WSSV, como VP28, VP26 e VP24, se ligando ao envelope viral e inviabilizando os vírions (ZHAO *et al.*, 2009). LvCTLD, por sua vez, apresentou atividade contra o YHV, se ligando às partículas virais e promovendo o recrutamento hemocítico e conseqüentemente a encapsulação, melanização e fagocitose dessas partículas (JUNKUNLO *et al.*, 2012). Outra metodologia bastante utilizada para averiguar o papel de determinadas lectinas contra agentes patogênicos específicos é ocasionar o silenciamento dos genes relacionados a essas moléculas e em seguida promover uma infecção experimental com o agente etiológico alvo. Após o silenciamento gênico de *LvCTL3*, *LvLec1*, *LvLdlrCTL*, *LvCTLU* e *LvCTL5*, observou-se maior mortalidade em camarões infectados por WSSV e *Vibrio* sp. (LI *et al.*, 2014; LIANG *et al.*, 2019; LUO *et al.*, 2019, 2011; SONG *et al.*, 2019). Esses resultados sugerem fortemente que a indisponibilidade dessas lectinas durante um processo infeccioso causa uma depleção no sistema immune, tornando as respostas fisiológicas menos eficientes, resultando em uma maior mortalidade observada.

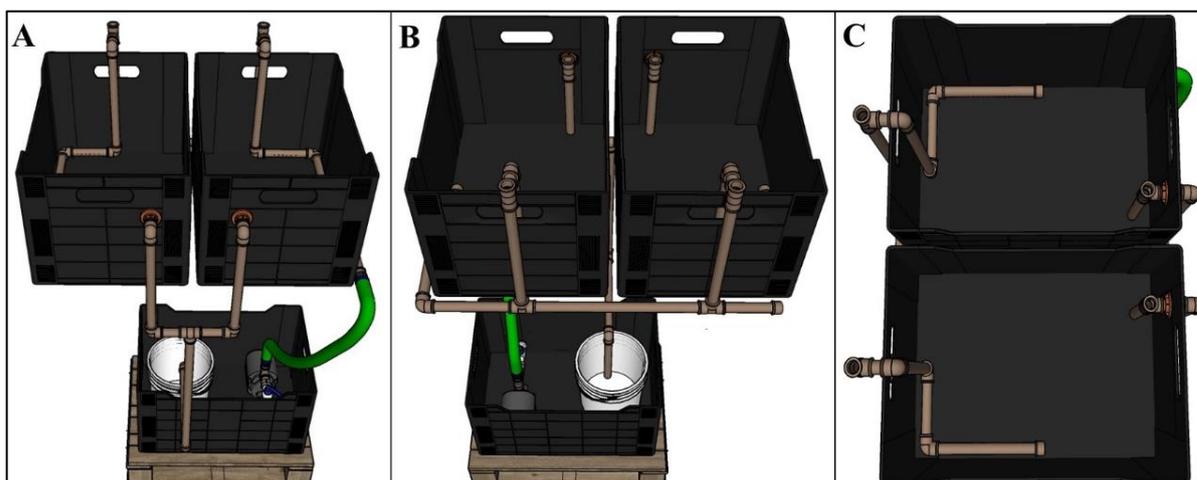
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos animais e construção do sistema experimental

Os camarões ($\bar{x} = 7,0$ g) utilizados no desafio experimental foram cordialmente cedidos pela Fazenda Bom Princípio, localizada no município de Guaiuba/CE, transportados ao Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM/Labomar) e mantidos em sua unidade de bioensaios. Os animais foram aclimatados durante uma semana, mantidos sob aeração constante e com os parâmetros de qualidade de água monitorados diariamente com o uso de uma sonda multiparamétrica modelo HI9146 (HANNA®).

Os sistemas experimentais foram confeccionados utilizando-se caixas pretas de polipropileno de 56 L (32 cm x 57 cm x 39 cm) (São Bernardo Ltda®), mantidos sob aeração (compressor de ar 75W, JAD®) e recirculação (bomba submersa 30W, SARLO Better®) constantes. Cada sistema experimental consistiu em duas caixas e um filtro comum às duas, isolando cada réplica de tratamento das demais. Na Figura 2 encontra-se o desenho padrão dos sistemas experimentais utilizados no presente trabalho.

Figura 2. Esquema tridimensional de um sistema experimental montado para o presente trabalho. (2A) Vista posterior; (2B) Vista anterior; e (2C) Vista superior.



Fonte: Alvaro Luccas Bezerra dos Santos (2022).

A queda de água das caixas para o filtro acontece por gravidade, com o auxílio de uma conexão interna para a renovação da água de fundo e remoção da matéria orgânica associada a ela. O retorno da água para o sistema ocorre por um cano em “L” com pequenas perfurações, resultando em uma saída de água de forma diagonal à caixa, empurrando a matéria

orgânica ao encontro da conexão que transfere a água para o filtro. O processo de filtragem foi dividido em duas etapas, a primeira delas sendo mecânica, filtrando a água por meio de uma manta de fibra de vidro; e uma segunda etapa, com filtragem biológica, utilizando-se de mídias biológicas MBBR3, de 16 mm de diâmetro (nanoplastic®), para a fixação de compostos nitrogenados.

Os animais foram mantidos em salinidade de 1,0 ppm, condição já existente na fazenda de origem, oxigênio dissolvido ≥ 4 mg/L, temperatura de 27 °C, pH 7,3, fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, e renovação diária de 300%. A alimentação foi ofertada duas vezes ao dia (9h e 16h), totalizando 3,5% da biomassa ao dia, utilizando ração comercial 40%PB (Nexco®).

3.2 Preparação dos extratos teciduais

Ao longo do estudo foram utilizados dois tipos de extratos teciduais, um extrato de tecido infectado por IMNV e um extrato de tecido livre de patógenos específicos (SPF, do inglês *specific pathogen free*). O extrato de tecido infectado por IMNV utilizado no estudo foi proveniente do banco amostral do CEDECAM, armazenado a -80°C e com diagnóstico prévio para a presença do IMNV, conforme Freitas (2020).

Para a produção do extrato de tecido SPF, 20 camarões com peso médio aproximado de 8 g, oriundos da fazenda Santa Tereza, em Caucaia/CE, foram levados até o CEDECAM, onde o processamento das amostras se prosseguiu. Os animais tiveram seus pleópodos removidos, servindo de material biológico para a extração de ácidos nucleicos para diagnóstico, por qPCR, para IMNV, Vírus da Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Infecção Hipodermal e Necrose Hematopoiética (IHHNV). As reações de diagnóstico analisaram amostras em *pools* de quatro camarões, onde constatou-se a ausência dos três patógenos. O protocolo para o preparo dos inóculos seguiu, com adaptações, a metodologia proposta por Prior *et al.* (2003). Dessa forma, o extrato SPF foi preparado com base no tecido muscular dos animais analisados, sendo homogeneizados em tampão salino gelado (NaCl 330 mM, Tris 10 mM, pH 7,4) na proporção 1:10 de peso/volume. Em seguida, essa mistura foi centrifugada a 4.000 g/30 min, recuperando-se o sobrenadante para uma nova etapa de centrifugação, agora a 8.000 g/30 min. Em ambas as centrifugações a temperatura foi mantida a 4 °C. O sobrenadante foi novamente recuperado e filtrado por meio de uma membrana de 0,45 μ m (CROMAFIL®Xtra) e, em seguida, a 0,22 μ m com auxílio de um sistema de filtração a vácuo (TPP®). Após a filtragem, o material foi armazenado a -80 °C até sua utilização.

Após a obtenção do filtrado final, novas reações de qPCR foram realizadas para a confirmação da presença e da concentração do vírus em questão, assim como a ausência do IHHNV e do WSSV. Dando prosseguimento, foi preparada uma solução estoque e uma na concentração de uso nas etapas de desafio experimental, ambas permanecendo a -80 °C até o momento de uso.

O extrato bruto de tecido infectado foi retirado do banco amostral do CEDECAM e passou pelas mesmas etapas de filtragem do extrato de tecido SPF relatadas anteriormente. Em seguida, uma parcela do extrato filtrado foi recolhida para uma nova extração de ácidos nucleicos e confirmação da ausência do WSSV e IHHNV e da presença do IMNV, além de quantificar a carga viral no inóculo.

3.3 Análise bioinformática

Todas as lectinas (LvLdlrCTL, LvCTL4, LvCTL5, LvAV e LvCTLU) foram caracterizadas por meio de análises bioinformáticas. As correspondentes ORFs e proteínas traduzidas estão disponíveis no *Genbank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Números de acesso para as sequências de nucleotídeos e aminoácidos correspondentes às lectinas investigadas no presente estudo.

Lectina	Nº de acesso (nt)	Nº de acesso (aa)
LvLdlrCTL	MH746942	AYA22372
LvCTL4	KM387560	AKA64754
LvCTL5	MK805099	QGA67284
LvAV	JX983205	AGC54451
LvCTLU	MK952741	QGW58119

Fonte: O autor. nt, nucleotídeos; aa, aminoácidos.

As sequências já traduzidas foram utilizadas, por meio da plataforma ProtParam, para as análises do número de aminoácidos, peso molecular (MW), ponto isoelétrico teórico (pI), número de resíduos carregados (-R e +R), coeficiente de extinção (EC), estimativa de meia-vida (*h*), índice de instabilidade (II), índice alifático (AI) e hidrofobicidade (GRAVY). A presença de peptídeo sinal foi verificada pelo SignalP4.1. Para o cálculo de predição dos

elementos de estrutura secundária foi utilizada a ferramenta SOPMA. A plataforma PROSITE, por sua vez, foi utilizada para a caracterização funcional das lectinas e a predição de pontes dissulfeto. Além disso, verificou-se ainda a probabilidade de modificações pós-traducionais, como N-glicosilação, C-glicosilação, O-glicosilação, fosforilação e a clivagem de sítios propeptídicos; por meio dos algoritmos NetNGlyc 1.0, NetCGlyc 1.0, NetOGlyc 4.0, NetPhos 3.1 e ProP 1.0, respectivamente.

Para a predição da arquitetura molecular utilizou-se a ferramenta *Simple Modular Architecture Research Tool* (SMART). Por intermédio dos dados depositados na plataforma *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) e eggNOG-mapper, verificou-se a participação das lectinas em vias metabólicas já descritas e a sua anotação funcional, respectivamente. Todos os *links* de acesso para as ferramentas citadas anteriormente estão listados na Tabela 3.

Tabela 3. *Link* de acesso para as ferramentas de análises de bioinformática utilizadas no presente estudo.

Ferramenta	Link de acesso
ProtParam	https://web.expasy.org/protparam/
SignalP4.1	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-4.1
SOPMA	https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html
PROSITE	https://prosite.expasy.org/cgi-bin/prosite/PSScan.cgi
NetNGlyc 1.0	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetNGlyc-1.0
NetCGlyc 1.0	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetCGlyc-1.0
NetOGlyc 4.0	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetOGlyc-4.0
NetPhos 3.1	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1
ProP 1.0	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?ProP-1.0
SMART	http://smart.embl-heidelberg.de/
KEGG	https://www.genome.jp/kegg/
eggNOG-mapper	http://eggnog-mapper.embl.de/

Fonte: O autor.

3.4 Desafio experimental

Utilizando-se da unidade experimental de bioensaios do CEDECAM, 100 camarões, com peso médio de 8 g, foram separados em 2 grupos de 50 indivíduos e subdivididos igualmente em dois aquários. No grupo 1, tratamento controle, foram injetados 50 µL de extrato de tecido SPF nos camarões; já no grupo 2, 50 µL de extrato infectante contendo 10^4 cópias do IMNV, em concentração padronizada, conforme Freitas (2020).

Em cada tratamento, 6 camarões foram aleatoriamente recolhidos em cada amostragem, que aconteceram no momento inicial do experimento (0), 4, 8, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após infecção (hpi), seguindo o perfil de expressão analisado por Li *et al.* (2015) e Song *et al.* (2019), onde os animais foram processados em 2 *pools* de três animais. Em cada amostragem, foram coletados imediatamente 300 µL de hemolinfa com o auxílio de seringa de 1 mL e agulha hipodérmica 25 × 0,7 mm lavadas com anticoagulante (400 mM NaCl, 8 mM KCl, 8 mM HEPES, 10 mM EDTA; pH 7,3) (VARGAS-ALBORES; GUZMÁN; OCHOA, 1993). Posteriormente, os camarões foram insensibilizados em gelo e processados, coletando-se o hepatopâncreas, brânquias e intestino para a posterior extração de RNA e análise da expressão gênica das lectinas nos correspondentes tecidos, no decorrer do tempo pós infecção (HE *et al.*, 2015; SONG *et al.*, 2019).

3.5 Coleta de hemolinfa e contagem total de hemócitos (CTH)

Para a coleta da hemolinfa, como citado no tópico anterior, foi preparada uma solução anticoagulante à base de 400 mM NaCl, 8 mM KCl, 8 mM HEPES e 10 mM EDTA, com pH ajustado para 7,3 (VARGAS-ALBORES; GUZMÁN; OCHOA, 1993). Após a captura, os animais foram colocados em água com gelo para entrarem em um estágio mais letárgico e facilitar a coleta. Feito isso, o último esternito cefalotóraxico e o primeiro abdominal foram desinfetados com álcool 70% (v/v) para a punção. A coleta foi realizada com o auxílio de uma agulha hipodérmica de 25 × 0,7 mm, totalizando um volume de 100 µL na proporção 1:1. Após a coleta, a hemolinfa foi mantida em microtubos até o momento da análise em microscópio óptico (LIGHTNER, 1996).

O material armazenado foi suavemente homogeneizado por inversão e 10 µL da solução foram postos em uma câmara de *Neubauer*. Feito isso, esperou-se aproximadamente 2 minutos para a decantação das células e então a câmara foi levado ao microscópio para a

contagem celular em seus quatro quadrantes angulares externos. A contagem foi feita individualmente e o valor final foi dado de acordo com a Fórmula 1 apresentada abaixo:

$$(1) \quad CTH_{\text{Hemóцитos/mL}} = \text{Média}_{\text{Quadrantes}} \times \text{Fator de diluição} \times 10.000$$

Onde o fator de diluição é igual a soma da proporção. No caso de 1:1, o fator de diluição é igual a 2. O valor de 10.000 é fixo, sendo o valor padrão volumétrico do retículo da câmara corrigido para mL. Os camarões coletados para a contagem de hemócitos foram os mesmos coletados para as análises de expressão gênica, discriminados no tópico seguinte.

3.6 Extração de RNA e síntese de cDNA

O RNA total foi extraído com o reagente Trizol (Invitrogen®), de acordo com as instruções do fabricante. Após a extração, concentração foi determinada por quantificação espectrofotométrica, com auxílio do Nanodrop 2000 (ThermoScientific®). Em seguida, as amostras foram padronizadas e tratadas com DNase I por incubação a 37°C por 30 min.

Antes da síntese do cDNA, o RNA foi aquecido a 100°C por 5 minutos para desnaturar as dsRNA. O cDNA foi sintetizado com o *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (Life Technologies®) em um volume de 20 µL de reação final, dos quais: 4 µL de *RT Buffer* (10×), 1,6 µL de *dNTPs mix* (25×), 4 µL de *RT random primers* (10×), 2,0 µL de *MultiScribe™ Reverse Transcriptase* (50 U) e 2 µL de RNA total. As amostras foram incubadas em termociclador a 25°C por 10 min, seguidos de 37°C por 120 min e 85°C por 5 min. O cDNA foi armazenado a -20°C até a sua utilização para as análises de quantificação viral e expressão gênica por RT-qPCR.

3.7 Quantificação do IMNV por RT-qPCR

Para quantificação do número de cópias do IMNV foram utilizados os *primers* e sonda de hidrólise recomendados pela WOA (2022b). As reações de RT-qPCR foram realizadas em 10 µL de volume final contendo 5 µL de *Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG* (Invitrogen®), 0,3 µL (10 µM) de cada *primer* IMNV412F (5'-GGACCTATCATACATAGCGTTTGCA-3') e IMNV545R (5'-AACCCATATCTATTGTCGCTGGAT-3'), 0,15 µL (10 µM) da sonda de hidrólise (IMNVp1) (5'-6FAM CCACCTTTACTTTCAATACTACATCATCCCCGG TAMRA-3'), 0,2 µL (50×),

1 μL de cDNA e 3,05 μL de água ultrapura (Invitrogen®). Um controle negativo contendo todos os reagentes, exceto o cDNA alvo, e uma série de diluições do controle positivo pTOPO-IMNV.1 equivalente a 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 e 10^2 cópias do IMNV/ μg de RNA total foram adicionados a cada placa de RT-qPCR. O controle positivo pTOPO-IMNV.1 consiste de uma construção genética resultante da ligação de um *amplicon* de 593 pb do IMNV (N° de acesso no GenBank: AY570982, nt 197-789) ao pCR® 2.1-TOPO vector (Invitrogen®).

Para a quantificação do número de cópias virais foi empregada a plataforma 7500 *Real-time PCR system* (Applied Biosystems®). As condições de ciclagem foram as seguintes: 50 °C por 2 min, seguido da ativação da *Platinum®Taq DNA polymerase* a 95 °C por 2 min, e 40 ciclos de 15 s a 95 °C e 30 s a 60 °C. O número de cópias virais de cada amostra foi determinado de acordo com o *software* SDS 1.3.1 (Applied Biosystems®). Todas as amostras foram testadas em duplicata e somente consideradas positivas quando houve amplificação válida em ambas as réplicas.

3.8 Análise da expressão gênica

Os genes *LvLdlrCTL*, *LvCTL4*, *LvCTL5*, *LvAV* e *LvCTLU* foram analisados por RT-qPCR, utilizando o reagente *Platinum® SYBR® Green qPCR SuperMix – UDG* (Invitrogen®), na plataforma ABI 7500 *Real Time System* (Applied Biosystems®). Como genes de referências, foram utilizados a β -actina e o Fator de Elongação 1 α (*EF-1 α*), por meio da média geométrica dos seus valores de C_T (LIANG *et al.*, 2019); para fins comparativos, também se verificou a expressão do gene *proPO-1*, gene ligado à expressão da profenoloxidase e bem elucidado em experimentos imunológicos com invertebrados. O cálculo dos níveis de expressão relativos foi feito pelo método $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008). Além disso, para fins de cálculo, nos casos em que não houve amplificação aparente no grupo controle, admitiu-se um C_T igual a 40.

As reações se procederam em volume final de 10 μL , sendo 5 μL de *Platinum® SYBR® Green qPCR SuperMix-UDG* (Invitrogen®), 0,3 μL (10 μM) de cada *primer*, 0,2 μL do corante ROX, 1 μL de cDNA e 3,2 μL de água ultrapura (Invitrogen®). A termociclagem ocorreu em etapas de 2 min a 50°C, 2 min a 95°C, e 40 ciclos de 15 s a 95°C e 30 s a 60°C; e para maior confiança dos dados, as reações aconteceram em duplicata e validadas apenas quando a média dos C_T de mesma amostra apresentou desvio padrão $\leq 0,3$. As sequências dos *primers* utilizados encontram-se na Tabela 4. A eficiência dos *primers* foi verificada como

descrito por Freitas (2020) e a especificidade observada com base na análise das curvas de *melting* de cada alvo.

Tabela 4. Lista de *primers* utilizados, no presente estudo, para a análise de expressão gênica.

<i>Primer</i>	Sequência (‘5-3’)	Referência
LvLdlrCTL-F	ACCTCGGACTTCTGGATTGG	Liang <i>et al.</i> 2019
LvLdlrCTL-R	GTGGGTTTCCTGGGTCGTT	
LvCTL4-F	GCTTTTACTTCCATCAAGACCAG	Li <i>et al.</i> 2015
LvCTL4-R	TGTTAGGATGTACTCATAAAAATTCCCT	
LvCTL5-F	TGGCTTCTGTCAGGGTTTCC	Luo <i>et al.</i> 2019
LvCTL5-R	CGTCCGTCCACACGAAGCTC	
LvAV-F	GGGTCTTTGGCTGTGGATG	He <i>et al.</i> 2015
LvAV-R	TGTTGAGCGACGGAGGTG	
LvCTLU-F	GTCGTAGACACCGGCGACAC	Song <i>et al.</i> 2019
LvCTLU-R	GGGAAGCCAAGTCCACAGTCC	
proPO-1-F	CGGTGACAAAGTTCCTCTTC	Wang, Chang e Chen (2007)
proPO-1-R	GCAGGTCGCCGTAGTAAG	
EF-1 α -F	CCTATGTGCGTGGAGACCTTC	Liang <i>et al.</i> (2019)
EF-1 α -R	GCCAGATTGATCCTTCTTGTTGAC	
β -actina-F	GACCGAGGCTCCCCTTCAA	Feijó <i>et al.</i> (2016)
β -actina-R	TCTCGAACATGATCTGTGTCAT	

Fonte: O autor.

3.9 Análises estatísticas

A carga viral e a contagem total de hemócitos foram averiguadas por Análise de Variância Unidirecional (ANOVA *one-way*) e teste de Tukey para verificação entre pares. Os dados de expressão gênica foram submetidos a testes de homocedasticidade e normalidade (Shapiro-Wilk), para então decidir o próximo tratamento estatístico. Como os valores se mostraram paramétricos, foi utilizado o teste *t-student* para identificar as diferenças entre pares. As análises foram realizadas com o auxílio dos *softwares* Microsoft Excel® 2016 e RStudio®.

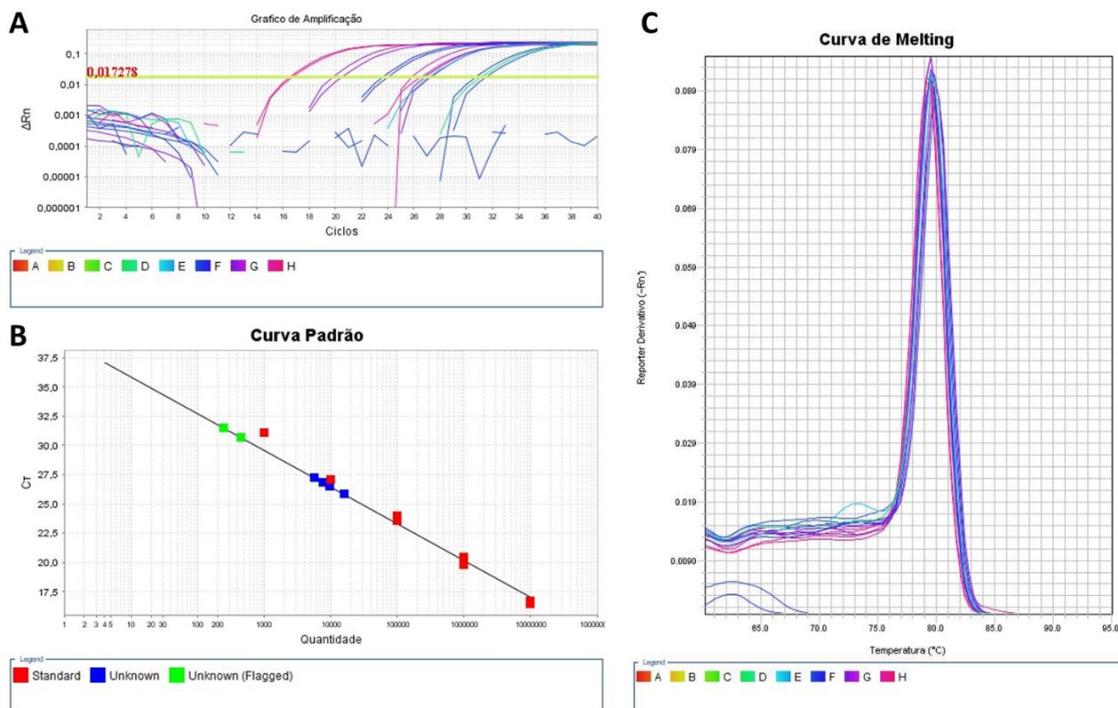
4 RESULTADOS

4.1 Preparo dos extratos teciduais

A reação de RT-qPCR revelou que o inóculo infectante detém uma carga viral de $6,55 \times 10^4$ cópias de IMNV/ μg de RNA total, baseado em curvas padrões com concentrações conhecidas ($10^4 - 10^8$ cópias de IMNV/ μg de RNA total). Na Figura 3 encontram-se os gráficos de amplificação (3A), regressão das curvas padrões (3B) e de *melting* (79,6 °C) (3C) relacionados à reação. As réplicas referentes às concentrações de 10^2 e 10^3 cópias de IMNV/ μg de RNA total apresentaram um comportamento inesperado e por isso foram omitidas na Figura 3B e do cálculo final da carga viral. As reações se procederam em quadruplicatas, cada uma delas em réplica de si mesma, totalizando oito repetições.

As reações de qPCR para detecção do WSSV e do IHNV mostraram resultados negativos para ambos os inóculos (infectante e SPF), bem como a reação de RT-qPCR referente ao inóculo SPF. As reações mostraram que o inóculo infectante por IMNV, de fato, apresenta apenas este patógeno e que o inóculo SPF está livre de todos os vírus analisados.

Figura 3. Gráficos referentes à RT-qPCR desenvolvida para análise do inóculo de IMNV utilizado no presente estudo. (3A) Gráficos de amplificação, (3B) Regressão das curvas padrões, e (3C) Curva de *melting* (79,6 °C).



Fonte: O autor.

4.2 Análise bioinformática

4.2.1 Análise de estruturas primárias

A análise da estrutura primária revelou que todas as lectinas apresentam um tamanho equivalente em termos de número de aminoácidos, com exceção da LvLdlrCTL que possui um domínio extra (LDLR). Essa diferença de tamanho reflete, inevitavelmente, no peso molecular, que também é maior para a LvLdlrCTL. Os demais parâmetros apresentaram valores diversos e são intimamente relacionados com as composições de estruturas primárias, sendo únicas para cada lectina. Todos os valores encontrados estão expostos na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros estimados para as sequências de aminoácidos das lectinas do camarão *P. vannamei* usando a ferramenta ProtParam.

Lectina	Tamanho (aa)	Peso molecular (Da)	pI	-R	+R	EC	h*	II	AI	GRAVY
LvAV	157	18004,11	4,84	20	11	49765	7,2	41,81	69,49	-0,396
LvCTL4	138	15747,48	4,64	18	8	52285	1,2	38,12	69,35	-0,333
LvCTL5	151	17140,87	4,80	23	10	29825	1,4	22,6	61,32	-0,386
LvCTLU	150	16818,54	4,27	23	9	43680	0,8	28,17	56,00	-0,337
LvLdlrCTL	284	32478,32	5,04	42	30	50640	1,0	35,55	59,37	-0,601

Fonte: O autor. aa, aminoácidos; Da, Dalton; pI, ponto isoelétrico; -R, resíduos negativos; +R, resíduos positivos; EC, coeficiente de extinção; h, tempo de meia-vida (*Parâmetro estimado para o contexto celular de um reticulócito mamífero); II, índice de instabilidade; AI, índice alifático; GRAVY, hidrofobicidade.

4.2.2 Análise de estruturas secundárias

Todas as lectinas apresentaram uma predominância de dobras aleatórias em suas estruturas secundárias, seguido de cadeias estendidas, α -hélices e folhas- β (Tabela 6).

Tabela 6. Elementos de estrutura secundária das lectinas do camarão *P. vannamei* preditos pela ferramenta SOPMA.

Elementos de estrutura secundária	LvAV	LvCTL4	LvCTL5	LvCTLU	LvLdlrCTL
α -hélice	19,75%	23,19%	21,19%	33,33%	23,59%
Cadeia estendida	23,57%	28,26%	26,49%	22,67%	21,83%
Folha- β	7,01%	10,14%	9,93%	8,67%	6,69%
Dobras aleatórias	49,68%	38,41%	42,38%	35,33%	47,89%

Fonte: O autor.

4.2.3 Caracterização funcional

As sequências das lectinas foram caracterizadas quanto à presença de motivos funcionais. De acordo com a ferramenta PROSITE, apenas a LvCTLU não apresentou motivo característico para lectinas do tipo C, entretanto todas as sequências apresentaram este motivo quando analisados pela plataforma SMART. A predição dos domínios apresentou maior precisão para a região C-terminal, representada pelo mesmo aminoácido em ambas as plataformas. O início dos domínios, por sua vez, variou de acordo com a ferramenta utilizada para caracterização, com diferenças sutis na porção N-terminal. LvLdlrCTL foi a única lectina que apresentou mais de um motivo, comportando um motivo característico de receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL_a), além do CLECT. Os motivos funcionais encontrados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Caracterização funcional das sequências de aminoácidos das lectinas do camarão *P. vannamei* usando as ferramentas PROSITE e SMART.

Lectina	PROSITE			SMART		
	Nº de <i>hits</i>	Motivo	Posição (aa)	Nº de <i>hits</i>	Motivo	Posição (aa)
LvAV	1	C_type_lectin_2	21 - 147	1	CLECT	14 - 147
LvCTL4	1	C_type_lectin_2	8 - 137	1	CLECT	1 - 137
LvCTL5	1	C_type_lectin_2	20 - 145	1	CLECT	13 - 145
LvCTLU	0	-	-	1	CLECT	2 - 145
LvLdlrCTL	2	LDLRA_2	1 - 41	2	LDL _a	1 - 42
		C_type_lectin_2	133 - 275		CLECT	126 - 275

Fonte: O autor.

4.2.4 Predição de sítios de glicosilação

Nenhuma das lectinas apresentou sítios com potencial para glicosilação do tipo C, apresentando *score* menor que 0,5 em todos os aminoácidos passíveis de glicosilação desta natureza. Entretanto, duas lectinas mostraram sítios com probabilidade à modificação do tipo N-glicosilação: LvAV e LvLdlrCTL (Tabela 8). A primeira delas, LvAV, apresentou um sítio de potencial moderado de N-glicosilação (Figura 4A); a LvLdlrCTL, por sua vez, mostrou dois sítios com alta probabilidade de sofrer glicosilação do tipo N e dois sítios que, embora tenham

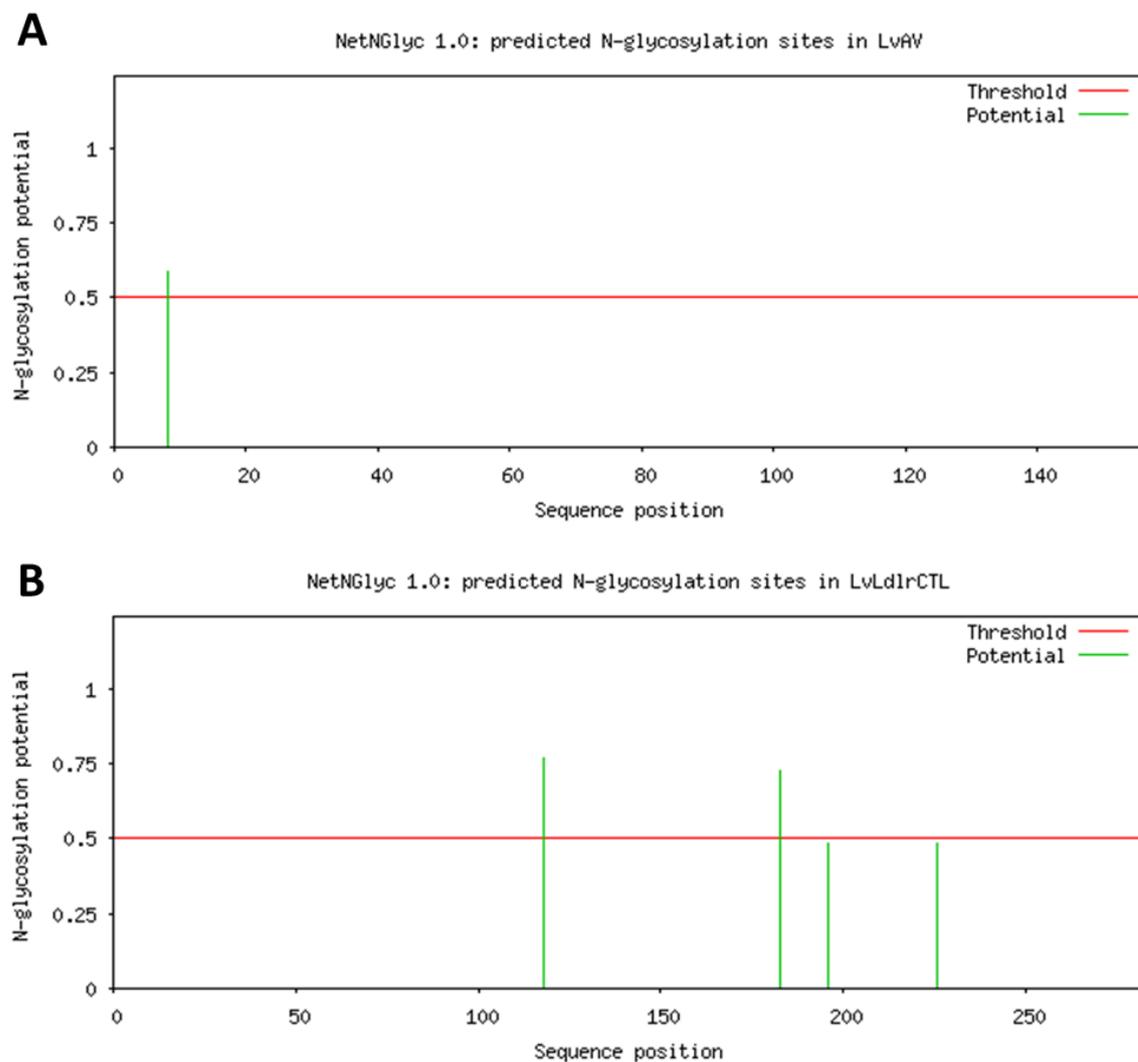
sequências características de regiões glicosiladas, não apresentaram potencial suficiente nesta proteína em específico (Figura 4B).

Tabela 8. Predição de sítios de N-glicosilação nas sequências de aminoácidos das lectinas do camarão *P. vannamei* usando a ferramenta NetNGlyc 1.0 *server*.

Lectina	Posição (aa)	Sequência	Potencial	Nível de confiança	Resultado N-Gly
LvAV	8	NESK	0,5862	7/9	+
LvCTL4
LvCTL5
LvCTLU
LvdlrCTL	118	NVTI	0,7671	9/9	+++
	183	NITS	0,723	9/9	++
	196	NKWT	0,4857	6/9	-
	226	NQTI	0,4838	5/9	-

Fonte: O autor.

Figura 4. Predição de sítios de N-glicosilação em lectinas do camarão *P. vannamei* usando a ferramenta NetNGlyc 1.0 server. (4A) Sítios de N-glicosilação na lectina LvAV; (4B) Sítios de N-glicosilação na lectina LvLdlrCTL.



Fonte: O autor.

Para O-glicosilação, LvAV e LvLdlrCTL apresentaram alto potencial de sofrerem modificações pós-traducionais em 4 e 6 sítios, respectivamente. Além destas, a LvCTL4 também mostrou um sítio passível de glicosilação (Tabela 9). Dessa forma, LvCTL5 e LvCTLU não apresentaram potencial para sofrer glicosilação de nenhuma natureza dentre as investigadas no presente trabalho e LvLdlrCTL é a mais susceptível.

Tabela 9. Predição de sítios de O-glicosilação nas sequências de aminoácidos das lectinas do camarão *P. vannamei* usando a ferramenta NetOGlyc 1.0 *server*.

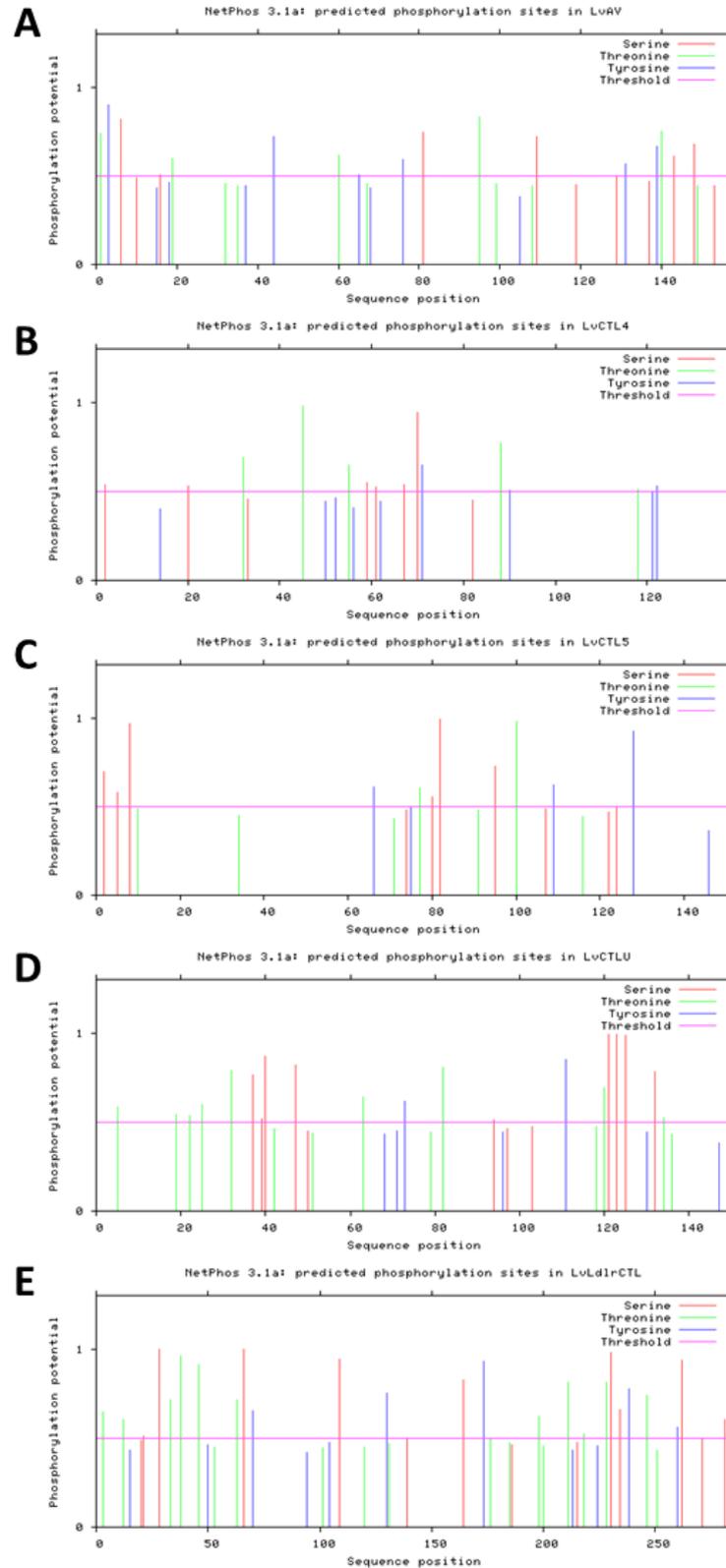
Lectina	Posição (aa)	Potencial	Resultado O-Gly
LvAV	1	0,535723	#POSITIVE
	6	0,556275	#POSITIVE
	99	0,530496	#POSITIVE
	109	0,560272	#POSITIVE
LvCTL4	88	0,615168	#POSITIVE
LvCTL5	.	.	.
LvCTLU	.	.	.
LvLdlrCTL	63	0,777796	#POSITIVE
	211	0,511088	#POSITIVE
	215	0,775629	#POSITIVE
	228	0,558694	#POSITIVE
	230	0,542822	#POSITIVE
	234	0,811143	#POSITIVE

Fonte: O autor.

4.2.5 Predição de sítios de fosforilação

A plataforma NetPhos 3.1 prediz os possíveis sítios de fosforilação em uma sequência proteica a partir da ação de dezessete quinases, são elas: ATM, CKI, CKII, CaM-II, DNAPK, EGFR, GSK3, INSR, PKA, PKB, PKC, PKG, RSK, SRC, cdc2, cdk5 and p38MAPK. Os resultados revelaram uma abundância de sítios de fosforilação em todas as lectinas analisadas. Os gráficos que mostram o potencial de fosforilação de cada resíduo de serina, treonina e tirosina estão disponíveis na Figura 5.

Figura 5. Predição de sítios de fosforilação em lectinas do camarão *P. vannamei* usando a ferramenta NetPhos 3.1 server. (5A) Sítios de fosforilação na lectina LvAV; (5B) Sítios de fosforilação na lectina LvCTL4; (5C) Sítios de fosforilação na lectina LvCTL5; (5D) Sítios de fosforilação na lectina LvCTLU; (5E) Sítios de fosforilação na lectina LvLdlrCTL.

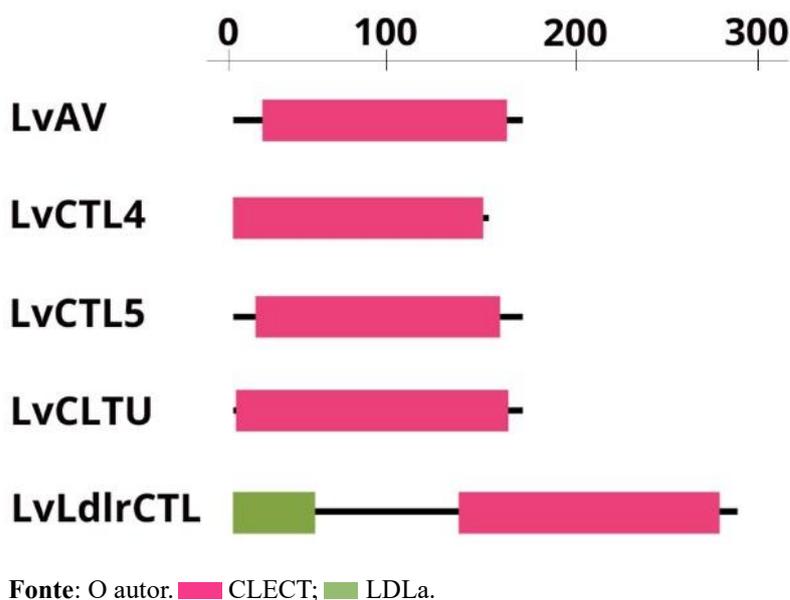


Fonte: O autor.

4.2.6 Predição de arquitetura molecular

A ferramenta SMART compara a arquitetura de uma molécula a partir da homologia de determinadas regiões da proteína alvo com bancos de dados, revelando uma organização molecular em termos de domínios e regiões conservadas. Para as cinco lectinas analisadas, a região de mais destaque é a referente ao domínio de reconhecimento de carboidratos típico para lectinas do tipo C (CLECT) e, no caso da LvLdlrCTL, também o domínio do tipo LDLa. As organizações proteicas, em termos de estrutura primária, estão sumarizadas na Figura 6.

Figura 6. Arquitetura molecular, predita usando a ferramenta SMART, das lectinas do camarão *P. vannamei*.



4.2.7 Predição de sítios de clivagem de propeptídeos

Não foi registrado potencial de clivagem para nenhum dos resíduos de arginina e lisina em nenhuma das lectinas investigadas, de acordo com a plataforma ProP 1.0.

4.2.8 Anotação funcional e predição de vias metabólicas

Não houve similaridade entre as sequências das lectinas estudadas e as depositadas nos bancos de dados utilizados pelas ferramentas KEGG e eggNOG-mapper, impossibilitando

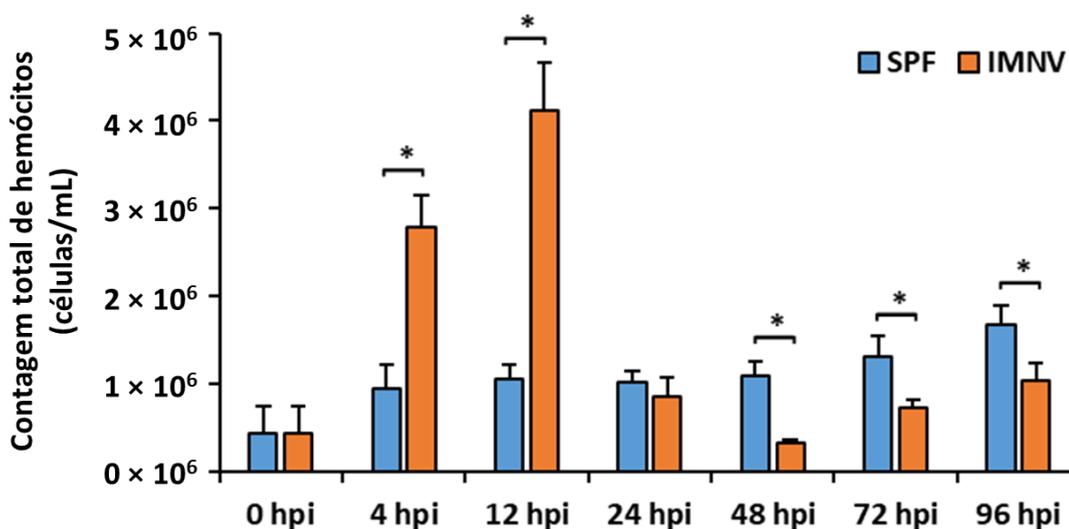
assim a anotação funcional e a predição da participação destas lectinas em vias metabólicas e interações moleculares já conhecidas e caracterizadas.

4.3 Contagem total de hemócitos (CTH)

A contagem total de hemócitos (CTH) revelou diferenças significativas na maioria dos tempos observados, com exceção apenas das coletas de 0 hpi e 24 hpi. A equivalência estatística no ponto 0 já era esperada, uma vez que ainda não existia diferença de tratamento entre os dois grupos.

As maiores diferenças numéricas verificadas foram nos dois pontos de coleta após a infecção de fato (4 hpi e 12 hpi), onde o grupo injetado com o inóculo de IMNV teve contagens 2,9 e 3,9 vezes maiores do que as do grupo controle, respectivamente. Em seguida (24 hpi), as médias de contagens se equipararam e nos últimos três pontos de coleta verificou-se um comportamento contrário, com o grupo infectado apresentando uma CTH significativamente menor (Figura 7).

Figura 7. Contagem total de hemócitos (CTH) em camarões infectados e não infectados por IMNV.



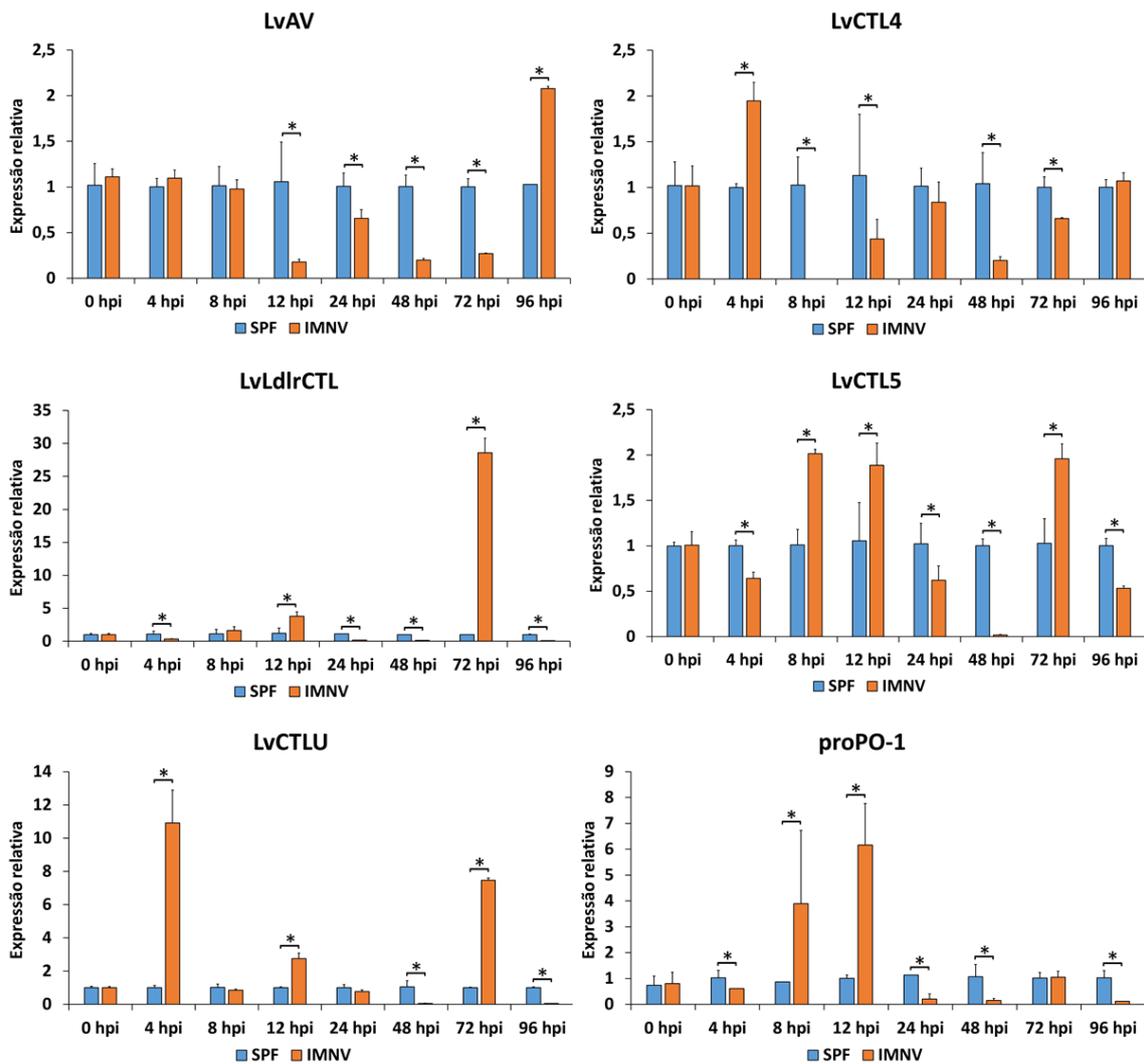
Fonte: O autor.

4.4 Análise da expressão gênica

4.4.1 Expressão gênica no hepatopâncreas

O gene *LvAV* apresentou regulação negativa entre as coletas 12 hpi e 72 hpi, apresentando um pico positivo de expressão (2,0x) no tempo 96 hpi. O gene *LvCTL4*, por sua vez, teve seu ápice de regulação positiva já no tempo 4 hpi (1,9x), reduzindo sua expressão nos tempos seguintes e equiparando-se ao tratamento controle no tempo 96 hpi (Figura 8).

Figura 8. Painel de expressão gênica do hepatopâncreas durante uma infecção por IMNV.



Fonte: O autor.

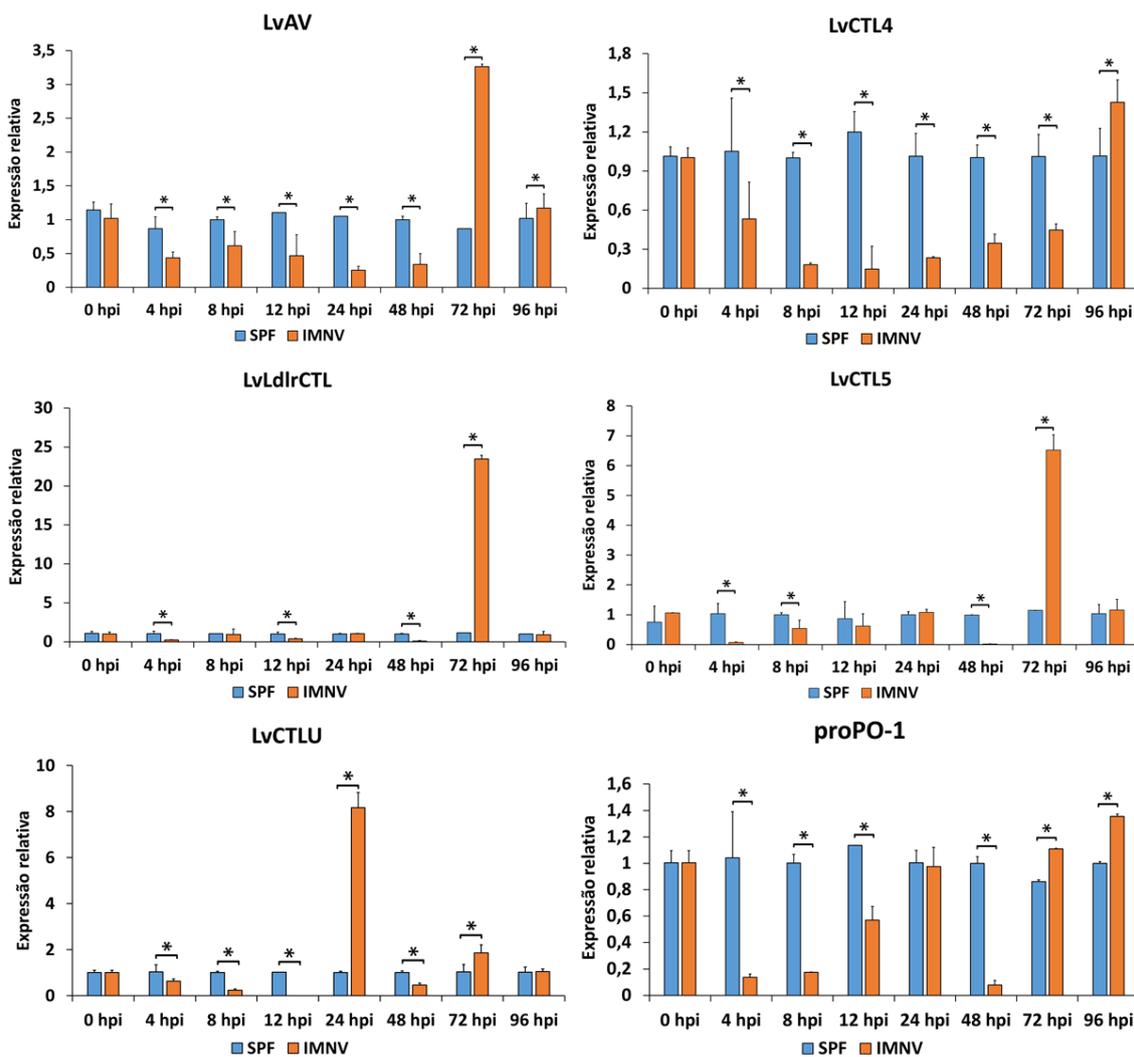
Com a maior expressão relativa verificada no hepatopâncreas, o gene *LvLdlrCTL* foi expresso 28,6x no tempo 72 hpi, sendo regulada positivamente também no tempo 12 hpi e negativamente nos tempos 4, 24, 48 e 96 hpi. Os genes *LvCTL5* e *LvCTLU* tiveram três pontos onde suas expressões foram reguladas positivamente, 8, 12 e 72 hpi e 4, 12 e 72 hpi, respectivamente. Já o gene *proPO-1*, reconhecido por sua atuação imunológica e bem

esclarecido quanto aos mecanismos de expressão, foi positivamente regulado nas coletas 8 e 12 hpi, 3,9 x e 6,2x, respectivamente (Figura 8).

4.4.2 Expressão gênica nas brânquias

Os genes *LvAV*, *LvLdlrCTL* e *LvCTL5* tiveram seus picos de expressão no tecido branquial às 72 hpi, 3,3x, 23,5x e 6,5x em comparação ao controle, respectivamente. Assim como no hepatopâncreas, entre os genes avaliados nas brânquias, o *LvLdlrCTL* foi o mais expresso (23,5x). *LvCTL4*, por sua vez, apresentou um único ponto onde sua expressão foi sutilmente regulada de forma positiva, na coleta 96 hpi (1,4x) (Figura 9).

Figura 9. Painel de expressão gênica das brânquias durante uma infecção por IMNV.



Fonte: O autor.

O gene *LvCTLU* apresentou dois pontos de maior expressão em relação ao controle, com seu pico às 24 hpi (8,2x) e em menor proporção às 72 hpi (1,8x). O gene da profenoloxidase, por sua vez, teve sua expressão regulada positivamente entre as 4 e 12 hpi e às 48 hpi, sendo equivalente ao controle no ponto 24 hpi e sutilmente regulado de forma positiva nas últimas duas coletas, sendo expresso 1,1x e 1,3x comparado ao controle (Figura 9).

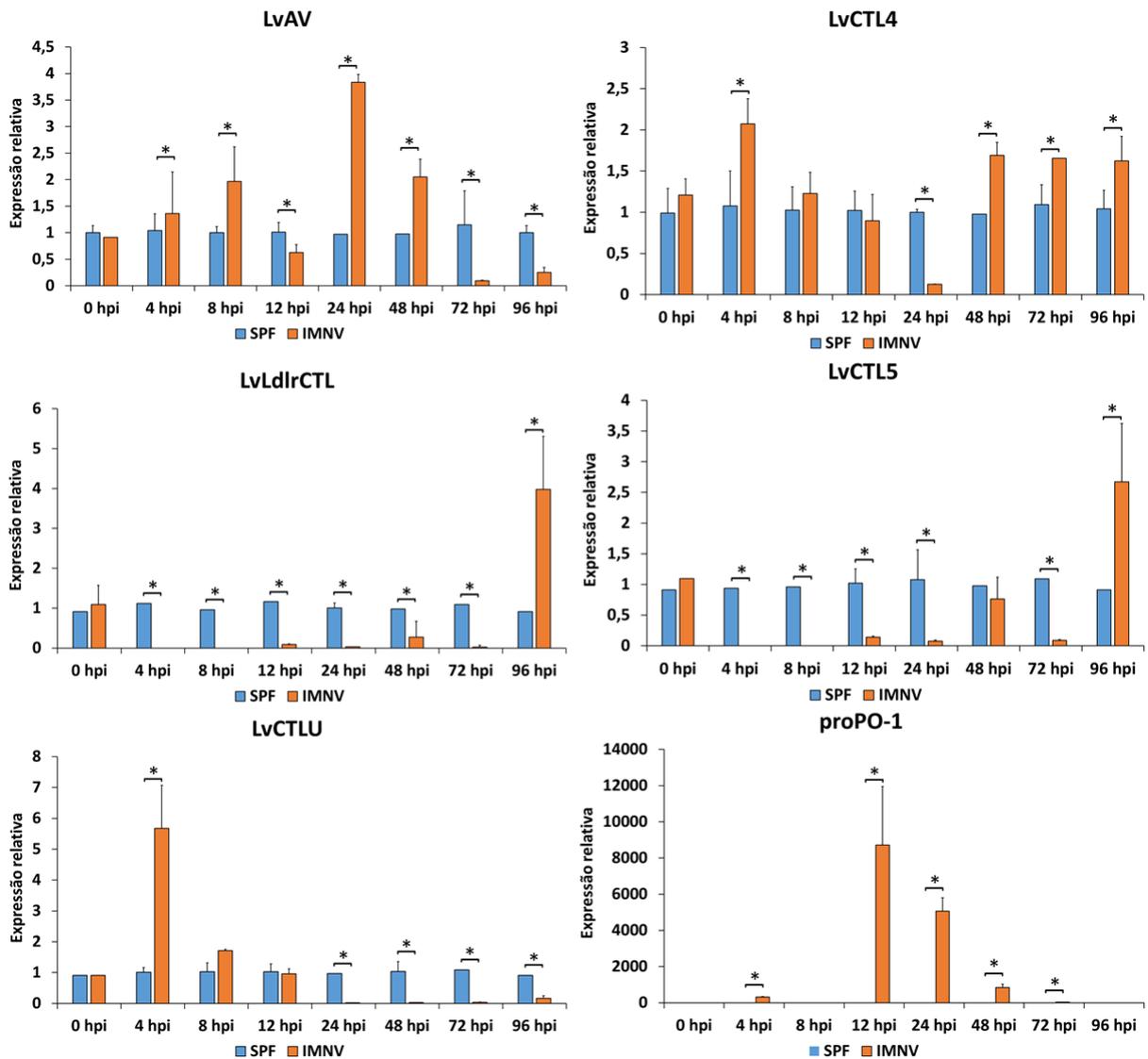
4.4.3 Expressão gênica no intestino

No tecido intestinal, a expressão relativa do gene *LvAV* apresentou um comportamento geral de ascensão e posterior declínio, atingindo seu pico às 24 hpi (3,8x). Os genes *LvLdlrCTL* e *LvCTL5* apresentaram perfis de expressão similares entre si, com regulação positiva apenas às 96 hpi, com valores 4,0x e 2,7x maiores em relação ao grupo controle, respectivamente (Figura 10).

LvCTL4 apresentou um pico de expressão às 4 hpi (2,1x) e um platô de regulação positiva entre 48 e 96 hpi, com valores entre 1,7x e 1,6x maiores do que o tratamento controle. *LvCTLU*, por sua vez, apresentou também um único ponto de expressão positiva (4 hpi), manifestando-se 5,7x quando comparado com grupo injetado com extrato SPF.

Já o gene *proPO-1* apresentou um comportamento inesperado, não sendo detectado em nenhuma das amostras do grupo controle. Entretanto, foi significativamente expresso no grupo infectado, atingindo níveis de expressão 8.720x maiores (12 hpi) (Figura 10).

Figura 10. Pannel de expressão gênica do intestino durante uma infecção por IMNV.



Fonte: O autor.

4.4.4 Expressão gênica na hemolinfa

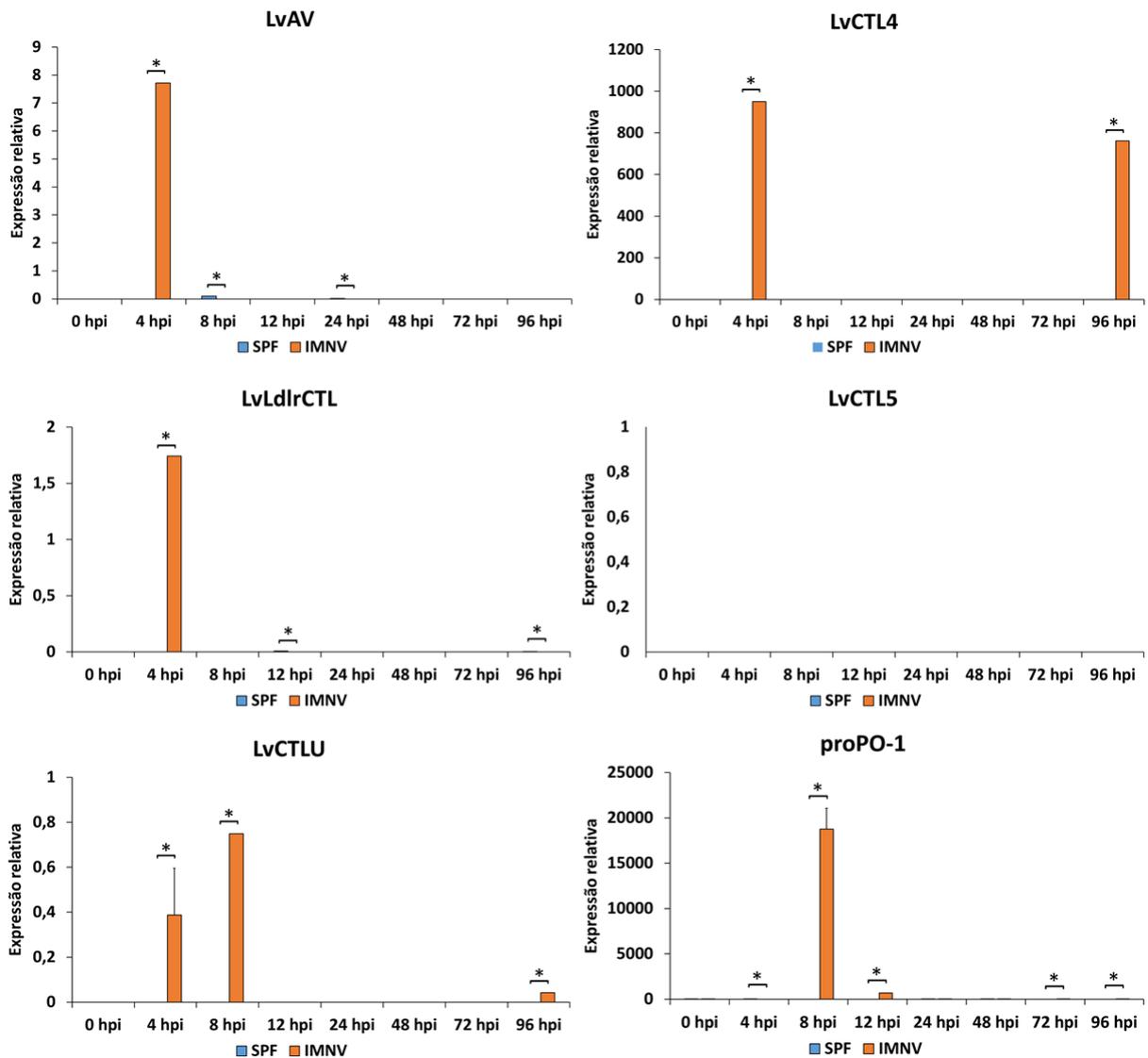
Apresentando um comportamento anômalo, quando comparado aos demais tecidos verificados, a grande maioria das amostragens não demonstraram níveis de expressão detectáveis na hemolinfa do grupo controle para nenhum dos genes e em poucas amostragens para o grupo infectado.

Os genes *LvAV* e *LvLdlrCTL* apresentaram um único ponto de regulação positiva, caracterizando um pico de expressão às 4 hpi, com níveis 7,7x e 1,7x maiores. *LvCTL4* e *LvCTLU* também apresentaram seus picos de expressão às 4 hpi, mas, ao contrário dos dois

genes já citados, esse não foi o único horário com expressão detectável. *LvCTL4* e *LvCTLU* foram 950,7x e 0,7x expressos às 4 hpi, respectivamente.

Por sua vez, o gene *LvCTL5* não apresentou expressão detectável para nenhuma das amostras coletadas em nenhum dos grupos teste. Já o gene referente à proPO-1 chegou a ser expresso 18.764x às 8 hpi, sendo esse o maior valor de expressão relativa verificado no presente estudo (Figura 11).

Figura 11. Paineis de expressão gênica da hemolinfa durante uma infecção por IMNV.



Fonte: O autor.

5 DISCUSSÃO

5.1 Análise bioinformática

Como registrado na Tabela 8, a análise das estruturas primárias evidenciou a discrepância entre tamanho e peso molecular da LvLdlrCTL em relação as demais lectinas, o que pode ser explicado pela presença do domínio LDLa (LIANG *et al.*, 2019). Por ter um motivo de reconhecimento além do CRD típico das lectina do tipo C, é esperado que a lectina LvLdlrCTL seja capaz de estabelecer interações intermoleculares diferentes das demais lectinas investigadas no presente trabalho, o que pode refletir também em diferentes mecanismos de ação antiviral (BERMEJO-JAMBRINA *et al.*, 2018; LIANG *et al.*, 2019). Dito isso, vale ressaltar que a LvLdlrCTL foi a lectina que apresentou os melhores índices de expressão frente a infecção por IMNV e que talvez essa diferença seja ocasionada pela presença do motivo LDLa, possivelmente conferindo proteção contra o IMNV por estabelecer ligações covalentes preferenciais do tipo vírus-lectina em vez da ligação vírus-receptor celular.

Ao analisarmos o índice de instabilidade (II) proteica, observamos que apenas a LvAV apresenta $II > 40$, sugerindo que essa lectina seja instável, de acordo com os parâmetros estipulados por Gamage *et al.* (2019). Todas as demais proteínas apresentaram $II < 40$, indicando sua provável estabilidade (Tabela 5). Os demais parâmetros foram considerados dentro da normalidade para todas as lectinas estudadas.

Concatenando-se aos dados de estrutura secundária, verificamos que LvAV é a lectina que apresenta maior porcentagem de dobras aleatórias (49,68%), fato que reforça a ideia de sua provável instabilidade. Seguidamente, a segunda lectina com a maior porcentagem de dobras aleatórias foi a LvLdlrCTL (47,89%). Todavia, ambas as lectinas manifestaram alto potencial para sofrerem modificações pós-traducionais que, por sua vez, podem auxiliar na estereoquímica de estabilização dessas moléculas após a síntese e tráfego celular (SCHWARZ; AEBI, 2011).

LvAV e LvLdlrCTL foram as únicas lectinas que apresentaram possíveis sítios de N-glicosilação. LvLdlrCTL, em particular, revelou ter quatro possíveis sítios de N-glicosilação, ao passo que LvAV aparenta ter apenas um sítio dessa natureza. A diferença no número de potenciais sítios de modificação pode ser explicada pelo maior tamanho da sequência primária da LvLdlrCTL em detrimento das demais lectinas, além da contribuição do seu domínio extra que possibilita modificações particulares a essa molécula (LIANG *et al.*, 2019; XIU *et al.*, 2016).

Já para modificações no tipo O-glicosilação, novamente as lectinas LvAV e LvLdlrCTL apresentaram maiores quantidades e probabilidades de ocorrência (Tabela 10), reiterando a dependência de modificações pós-traducionais para a estabilização dessas duas lectinas (BELTRAO *et al.*, 2013; DERIBE; PAWSON; DIKIC, 2010). Somadas a essas, foi observado também que todas as lectinas investigadas no presente estudo apresentam uma grande abundância de possíveis sítios de fosforilação.

Para fins de caracterização organizacional das lectinas, as ferramentas PROSITE e SMART forneceram resultados semelhantes, trazendo credibilidade para os dados gerados. Ambas as ferramentas se mostraram eficientes na predição de domínios bem estabelecidos e na Figura 6 é possível observar a arquitetura molecular das lectinas investigadas. A ferramenta SMART foi eficiente em prever a localização dos domínios LDLa e CLECT presentes na LvLdlrCTL, reforçando a individualidade organizacional dessa lectina em relação às demais analisadas.

A escassez de estudos mais aprofundados sobre lectinas de crustáceos dificulta algumas análises bioinformáticas, especialmente por grande parte dessas análises *in silico* se basearem em homologia de sequências para a estimativa dos resultados. Assim, não foi possível prever resultados de anotação funcional e vias metabólicas para as lectinas investigadas utilizando as ferramentas propostas e que, convenientemente, são as ferramentas clássicas utilizadas para esse tipo de análise (HUERTA-CEPAS *et al.*, 2019). Viana, Rocha e Maggioni (2022), ao analisarem todas as lectinas descritas para o *P. vannamei*, verificaram que apenas a LvGal apresenta anotação funcional eficiente, mas ainda sim carecendo de resultados sobre rotas metabólicas.

Ainda sobre o aspecto estrutural e funcional das lectinas estudadas no presente trabalho, todas apresentaram sequências sugestivas para peptídeo sinal em seu N-terminal. Em aspectos práticos, o peptídeo sinal funciona como um sinalizador celular para o transporte da proteína ao meio extracelular após sua tradução (RABOUILLE, 2017). Ao efetuar o transporte proteico, há a clivagem do peptídeo sinal e a exportação da proteína considerada madura (NICKEL; RABOUILLE, 2009). No caso das lectinas imunológicas no camarão, a presença de peptídeo sinal parece ser uma estratégia evolutiva para que essas lectinas estejam prontamente disponíveis na hemolinfa como fatores humorais de defesa contra patógenos invasores (VIANA; ROCHA; MAGGIONI, 2022).

5.2 Contagem total de hemócitos (CTH)

Ao investigarem camarões *P. vannamei* infectados por IMNV, Costa *et al.* (2009) observaram que camarões com sintomatologia avançada apresentavam diferenças mais significativas em parâmetros imunológicos, como contagem de hemócitos e atividade da fenoloxidase, quando comparados com assintomáticos ou levemente sintomáticos. Todavia, no presente estudo foram registradas diferenças significativas já 4 hpi, ainda assintomáticos.

Como a maioria dos estudos verifica a contagem de hemócitos em intervalos de dias, há uma limitação metodológica para a comparação dos dados obtidos com os registros da literatura. Entretanto, a proposta do presente trabalho foi estimar a contagem de hemócitos paralelamente à verificação da expressão diferencial, promovendo uma correlação entre esses dados.

Diversos autores relatam a redução na contagem total de hemócitos após infecções virais, como WSSV (YEH *et al.*, 2009), TSV (SONG *et al.*, 2003), IHHNV (YEH *et al.*, 2009) e YHV (HAVANAPAN *et al.*, 2016). Interessantemente, no presente trabalho foi verificado um aumento significativo entre 4 e 12 hpi, voltando aos níveis normais em 24 hpi. Entretanto, de 48 hpi em diante a contagem permaneceu significativamente inferior à registrada para o grupo controle, indo ao encontro dos resultados da maioria dos estudos citados acima. Talvez não haja registros desse incremento inicial exatamente pela limitação metodológica relatada, registrando-se apenas a tendência decrescente da contagem após dias de infecção, quando normalmente ocorrem as coletas e análises.

Ao analisar outros parâmetros da hemolinfa, Costa *et al.* (2009) também verificaram um aumento significativo da atividade aglutinante e do número de hemócitos em apoptose em *P. vannamei* infectados com IMNV e sugerem que parte dos incrementos registrados seja devido à atividade antiviral de lectinas nos fluidos do camarão, reforçando a hipótese defendida no presente estudo.

Interligando os resultados da contagem total de hemócitos com os de expressão diferencial na hemolinfa, observamos uma sobreposição de resultados. O primeiro ponto onde se verifica uma contagem significativamente maior (4 hpi) é o mesmo ponto onde houve picos de expressão para as lectinas *LvAV*, *LvLdlrCTL*, *LvCTL4* e *LvCTLU*, sugerindo a participação dessas proteínas no recrutamento de hemócitos.

A atuação das lectinas como moléculas recrutadoras de hemócitos já é bem descrita na literatura, inclusive para algumas lectinas do próprio *P. vannamei*, como *LvCTLD* durante infecções por YHV (JUNKUNLO *et al.*, 2012), *LvLdlrCTL* e *LvLTLC1* frente *Vibrio* sp. (LIANG *et al.*, 2019; TIAN *et al.*, 2018) e *LvCTLU* em infecções por WSSV (SONG *et al.*,

2019). Entretanto, o presente estudo apresenta os primeiros indícios do recrutamento de hemócitos, via lectinas, contra uma infecção por IMNV.

5.3 Análise da expressão gênica

O hepatopâncreas e as brânquias, no presente estudo, comportaram-se como os melhores tecidos para avaliação da expressão gênica diferencial de lectinas em camarões *P. vannamei* infectados com o IMNV, uma vez que tiveram um perfil de expressão constante e estável no grupo controle, o que não foi observado em todas as amostras de intestino e hemolinfa. Esse dado reforça os resultados obtidos por Li *et al.* (2015) e Liang *et al.* (2019), que consideraram esses dois tecidos, dentre diversos outros, os melhores para se avaliar a expressão de lectinas em camarões experimentalmente infectados por WSSV e *Vibrio* spp.

Em muitos casos, como o apresentado por Luo *et al.* (2019), os níveis basais de expressão de algumas lectinas são naturalmente superiores no hepatopâncreas, a exemplo da *LvCTL5* que é cerca de 6.000x mais expressa no hepatopâncreas do que em outros tecidos como hemolinfa, músculo e estômago. Tal observação sugere a escolha natural do hepatopâncreas como tecido modelo para a avaliação da expressão de lectinas em experimentos de desafio infeccioso com *P. vannamei*.

Ao observarmos a literatura, verificamos também que o hepatopâncreas desempenha um papel fundamental na síntese e estocagem de moléculas imunológicas (a exemplo das lectinas), além de se integrar a inúmeras vias metabólicas, favorecendo os mecanismos de resposta dos crustáceos de maneira geral e não somente do *P. vannamei* (VOGT, 2020). Dito isso, estudos com diversas espécies, como *Macrobrachium rosenbergii* (BALIARSINGH *et al.*, 2019), *Marsupenaeus japonicus* (ZHENG *et al.*, 2020), *Scylla paramamosain* (ZHANG *et al.*, 2019a) e *Neocaridina denticulate* (XING *et al.*, 2022), usam o hepatopâncreas como órgão preferencial para a avaliação da expressão gênica em experimentos imunológicos.

O intestino, por sua vez, apresentou valores consistentes de expressão para o grupo controle, com características ideais de normalização, assim como descrito para o hepatopâncreas e brânquias. Entretanto, o perfil de expressão verificado para a *proPO-1* foi considerado inesperado, uma vez que esse gene não foi expresso de maneira significativa no grupo controle e abruptamente regulado no grupo infectado. O mesmo fato foi verificado na hemolinfa, com o adendo de que nesse último tecido não foram verificados níveis de expressão detectáveis para o grupo controle em praticamente nenhum ponto de coleta.

A menor expressão gênica na hemolinfa pode ser explicada pelo fato de que, naturalmente, os níveis basais de expressão da maioria das lectinas avaliadas serem mais baixos nesse tecido, como relatado por He *et al.* (2015) para *LvAV*, Li *et al.* (2015) para *LvCTL4*, Luo *et al.* (2019) para *LvCTL5* e Song *et al.* (2019) para *LvCTLU*. Além disso, podemos destacar ainda que a hemolinfa, especificamente na sua parcela celular, constitui um grande reservatório de moléculas já maduras, especialmente no interior dos grânulos dos hemócitos (LIU; LIU; LIU, 2021; SÖDERHÄLL, 2016). Dessa forma, acredita-se que abordagens a nível de transcritos, como a RT-qPCR, não sejam as mais eficientes para avaliação de lectinas na hemolinfa, sendo mais viável o uso de técnicas de proteômica (GIANAZZA *et al.*, 2021; TAO *et al.*, 2019).

Outro fator potencialmente modulador de expressão gênica e que merece destaque são as condições de cultivo em que os animais foram mantidos, caracterizando-se como possíveis gatilhos ambientais de expressão (LE MOULLAC; HAFFNER, 2000; RAJEEV *et al.*, 2021). Sabe-se que diversas rotas fisiológicas podem ser influenciadas pelos sistemas de confinamento dos camarões, tais como bioflocos e águas verdes (PILOTTO *et al.*, 2020), além da alimentação ofertada (CABRERA-STEVENSON *et al.*, 2022) e dos parâmetros de qualidade de água, onde podemos ressaltar a salinidade (FARHADI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2022).

A salinidade é um dos principais fatores de qualidade de água dentro de um ambiente de cultivo, estando estritamente envolvida nos processos osmorregulatórios e que, por sua vez, influenciam diversos outros processos fisiológicos e metabólicos, entre eles a imunidade (CHEN; HE, 2019; LE MOULLAC; HAFFNER, 2000). Em ambientes de confinamento, a homeostase e o bem-estar são condições desejadas, favorecendo a saúde dos animais e a qualidade do produto final (PEDRAZZANI *et al.*, 2023). No caso da carcinicultura, a expansão da atividade levou à exploração de novas áreas de cultivo, criando zonas de produção em águas continentais de baixa salinidade (VIDAL, 2022).

A produção da espécie *P. vannamei* em águas oligohalinas e mesohalinas, só foi possível graças a intensas pesquisas envolvendo manejos de aclimação e produção, uma vez que se propõem a manter o animal fora de suas condições ótimas de homeostase (JAFFER *et al.*, 2020). Embora os cultivos interioranos já estejam bem estabelecidos, ainda há a carência de pesquisas mais aprofundadas sobre o bem-estar dos camarões nesse contexto, uma vez que não é o seu ambiente natural (COZER, 2021; MALAMUD, 2017). Sob a observação biológica desses animais serem produzidos em condições de estresse crônico, os cultivos em baixas

salinidades sabidamente influenciam na expressão de diversos genes e na eficiência das respostas imunes (CHEN *et al.*, 2015).

Segundo Esparza-Leal *et al.* (2019) e Lin *et al.* (2012), camarões *P. vannamei* mantidos indefinidamente em baixas salinidades apresentam maiores taxas de mortalidade, menores contagens de hemócitos e menores índices de expressão para alguns genes imunológicos, como profenoxidase, lisozima e superóxido dismutase, indicando uma provável depleção do sistema imune dos animais mantidos nessas condições (ZHAO *et al.*, 2015). Atrelado a isso, é sabido ainda que ambientes de baixa salinidade favorecem a replicação do IMNV, o que pode corroborar para um estado fisiológico de imunodepressão (VIEIRA-GIRÃO *et al.*, 2015).

Unindo os fatos mencionados, podemos sugerir que a manutenção dos animais em baixa salinidade, como no presente experimento (1 ppm), possa explicar as diferenças entre os sítios e os níveis de expressão basais que foram observados no grupo controle quando comparados aos dados registrados na literatura que, por vez, se concentram em camarões mantidos em salinidades naturais à espécie (HE *et al.*, 2015; LUO *et al.*, 2019; SONG *et al.*, 2019). Além disso, não foram encontrados depósitos de pesquisas que tenham investigado a expressão de lectinas imunológicas em nenhuma espécie hospedeira durante infecções por IMNV, sendo esse o primeiro registro científico.

Diversos estudos se propuseram em averiguar a expressão diferencial de lectinas no *P. vannamei* durante infecções por WSSV e *Vibrio* spp. e em menor quantidade, em infecções por YHV e IHHNV (VIANA; ROCHA; MAGGIONI, 2022). Li *et al.* (2015), por exemplo, observaram que *LvCTL4* era regulada positivamente entre 8 e 36 hpi no hepatopâncreas de *P. vannamei* infectados com *V. parahaemolyticus* e que o silenciamento desse gene refletiu em mortalidades de aproximadamente 60% dos indivíduos, reiterando sua atuação protetiva contra o patógeno em questão. No presente estudo, observou-se diferentes perfis de expressão para esse mesmo gene. No hepatopâncreas, verificou-se regulação positiva apenas 4 hpi; já nas brânquias, às 96 hpi; e no intestino às 4, 48, 72 e 96 hpi. Essa alternância de regulações de expressões provavelmente está envolvida com o tropismo viral durante o processo infeccioso (NOMAGUCHI *et al.*, 2012; SUTHAR *et al.*, 2013). Como os sinais clássicos da mionecrose infecciosa se manifestam ao longo dos segmentos abdominais (POULOS *et al.*, 2006), o intestino possivelmente é um órgão que sofre maior pressão infecciosa, refletindo em um platô de expressão do segundo dia de infecção em diante.

LvCTL5, como relatado por Luo *et al.* (2019), foi regulada positivamente em todos os horários de coleta entre 4 e 96 hpi durante desafios experimentais com *V. parahaemolyticus*,

A. niger e WSSV; no desafio com *S. aureus*, a regulação positiva só não foi observado às 24 e às 72 hpi. Durante o desafio com IMNV, realizado no presente estudo, verificou-se, no hepatopâncreas, regulação positiva às 8, 12 e 72 hpi. Além disso, às 72 e 96 hpi, para as brânquias e o intestino, respectivamente. Ainda segundo Luo *et al.* (2019), a lectina *LvCTL5* provavelmente age como imunorreguladora, já que seu silenciamento impactou o nível de expressão de diversos outros genes imunológicos, inclusive regulando positivamente a expressão de *LvCTL4*. Um fato interessante que pode ser observado no presente estudo é de que o pico de expressão da *LvCTL5*, no hepatopâncreas, às 72 hpi, se sobrepõe aos picos de expressão dos genes *LvLdlrCTL* e *LvCTLU*, e temporalmente se aproxima do pico de *LvAV* às 96 hpi. E de forma semelhante, nas brânquias, também às 72 hpi, há a sobreposição com *LvAV*, *LvLdlrCTL* e *LvCTLU*, e *LvCTL4* às 96 hpi. Tais registros sugerem que o efeito imunorregulador da *LvCTL5* também se manifesta em infecções pelo IMNV, aumentando paralelamente o nível de expressão das demais lectinas analisadas.

Por sua vez, *LvCTLU* apresentou, tanto em camarões *P. vannamei* infectados por WSSV como por *V. parahaemolyticus*, os maiores e menores índices de regulação positiva no intestino e no hepatopâncreas, respectivamente (SONG *et al.*, 2019). Curiosamente, no desafio pelo IMNV aqui proposto, verificou-se um comportamento exatamente oposto, com maiores níveis registrados no hepatopâncreas, similares aos das brânquias, e níveis menores no intestino. As diferenças entre os sítios de expressão recrutados em cada tipo de infecção podem ser explicadas exatamente pelas principais estruturas afetadas em cada processo infeccioso, resgatando o conceito de tropismo viral (MCFADDEN *et al.*, 2009; ZHU *et al.*, 2013). Enquanto vibrioses e a WSS afetam diretamente o funcionamento do hepatopâncreas, a IMN se manifesta de forma mais evidente no músculo estriado e no órgão linfoide (LI; WENG; HE, 2019; POULOS *et al.*, 2006; VALENTE; WAN, 2021). Dessa forma, em uma infecção por IMNV é esperado que o hepatopâncreas tenha maior participação imunológica, uma vez que não é um dos órgãos preferencialmente afetados por esse patógeno e, portanto, permanece são por mais tempo.

O gene codificante para a lectina *LvLdlrCTL* foi considerado o que teve os resultados mais significativos no presente estudo, com os maiores níveis de expressão relativa dentre as lectinas investigadas, além de apresentar comportamento constante no grupo controle. O gene em questão apresentou ainda sobreposição de picos de expressão, às 72 hpi, no hepatopâncreas e nas brânquias, sendo expresso mais de 25 vezes no grupo infectado por IMNV. Ao investigarem o gene *LvLdlrCTL* frente infecções por WSSV, Liang *et al.* (2019) observaram maiores índices de expressão também às 72 hpi, corroborando com os dados

encontrados no presente trabalho e, provavelmente, indicando que o gatilho para a síntese e a atuação dessa lectina se dá em torno de 3 dias após infecções por viroses. Ao analisarem a expressão da mesma lectina em infecções por vibrioses e componentes de células bacterianas, Liang *et al.* (2019) registraram regulações positivas mais significativas às 96 hpi, sugerindo que essa lectina age tanto contra vírus como também contra bactérias, mas por vias imunológicas diferentes e que são ativadas em momentos também diferentes, provavelmente por atuarem de forma complementar a diversas outras moléculas antimicrobianas recrutadas por PAMPs distintos (KULKARNI *et al.*, 2021; TASSANAKAJON *et al.*, 2018).

Indo de encontro à tendência registrada por He *et al.* (2015), o gene *LvAV* foi regulado positivamente às 96 hpi pelo IMNV. Já em experimentos com WSSV os maiores níveis foram identificados às 2 hpi, apresentando perfis de expressão inversos. Paralelo a esses resultados, o silenciamento gênico da *LvAV* ocasionou uma redução da carga viral de WSSV, enquanto a injeção de r*LvAV* teve um efeito estimulador na replicação viral. Dessa maneira, a lectina *LvAV* parece favorecer a progressão infecciosa por WSSV (HE *et al.*, 2015). Entretanto, como os perfis de expressão registrados apresentaram comportamentos inversos, espera-se que a *LvAV* atue antagonicamente ao IMNV, entretanto experimentos mais específicos precisam ser desenvolvidos para responder esse questionamento.

O gene *proPO-1*, por sua vez, foi adicionado ao trabalho por ser um gene imunológico já bem descrito e de ação conhecida (AMPARYUP; CHAROENSAPSRI; TASSANAKAJON, 2013; CERENIUS; LEE; SÖDERHÄLL, 2008). Entretanto, no curso do delineamento experimental proposto, tal gene não se comportou de forma esperado no intestino e hemolinfa, sendo praticamente indetectável no tratamento controle. No hepatopâncreas e brânquias, por sua vez, a *proPO-1* apresentou níveis condizentes de expressão, relacionando-se com as expressões lectínicas e corroborando para a credibilidade dos dados gerados para esses dois tecidos. No hepatopâncreas a expressão foi regulada positivamente entre 72 e 96 hpi, enquanto nas brânquias esse fenômeno aconteceu entre 8 e 12 hpi, reforçando a ideia de que estruturas diferentes são recrutadas em momentos diferentes durante um processo infeccioso, provavelmente como resposta do organismo frente ao tropismo viral (SUTHAR *et al.*, 2013).

6 CONCLUSÃO

Podemos concluir que as lectinas imunológicas do camarão *P. vannamei* possuem sua expressão regulada positivamente durante infecções pelo IMNV, especialmente LvLdlrCTL e LvCTL5, e que provavelmente essas lectinas estão envolvidas em processos imunorreguladores e no recrutamento de hemócitos. Foi possível ainda associar a presença de um domínio extra do tipo LDLa e o alto potencial para modificações pós-traducionais à maior expressão da LvLdlrCTL.

REFERÊNCIAS

- ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **História da carcinicultura no Brasil**. Natal: ABCC, 2001. Disponível em: <https://abccam.com.br/2011/02/historia-da-carcinicultura-no-brasil/>. Acesso em: 29 abr. 2020.
- ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Camarão da Costa Negra, no Ceará, é o melhor e mais caro do mundo**. Natal: ABCC, 2012. Disponível em: <https://abccam.com.br/2012/03/camarao-da-costa-negra-no-ceara-e-o-melhor-e-mais-caro-do-mundo/>. Acesso em: 4 jul. 2022.
- ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Manual de boas práticas de manejo e biossegurança**. Natal: ABCC, 2014. Disponível em: <https://abccam.com.br/2014/01/manual-de-boas-praticas-de-manejo-e-biosseguranca-abcc-2/>. Acesso em: 2 jun. 2020.
- ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **A extraordinária evolução mundial do *Litopenaeus vannamei***. Natal: ABCC, 2017. Disponível em: <https://abccam.com.br/2017/01/a-extraordinaria-evolucao-mundial-do-litopenaeus-vannamei/>. Acesso em: 29 abr. 2020.
- ABCC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Censo da carcinicultura dos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí 2021**. Natal: ABCC, 2022.
- AHMED, N.; THOMPSON, S.; GLASER, M. Global Aquaculture Productivity, Environmental Sustainability, and Climate Change Adaptability. **Environmental Management**, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 159–172, 2019.
- ALENTON, R. R. R.; KOIWAI, K.; NAKAMURA, R.; THAWONSUWAN, J.; KONDO, H.; HIRONO, I. A Hint of Primitive Mucosal Immunity in Shrimp through *Marsupenaeus japonicus* Gill C-Type Lectin. **The Journal of Immunology**, [S. l.], v. 203, n. 8, p. 2310–2318, 2019.
- ALY, S. M.; MANSOUR, S. M.; THABET, R. Y.; MABROK, M. Studies on infectious myonecrosis virus (IMNV) and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in cultured penaeid shrimp in Egypt. **Diseases of Aquatic Organisms**, [S. l.], v. 143, p. 57–67, 2021.
- AMPARYUP, P.; CHAROENSAPSRI, W.; TASSANAKAJON, A. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 34, n. 4, p. 990–1001, 2013.
- ANDRADE, T. P. D.; LIGHTNER, D. V. Development of a method for the detection of infectious myonecrosis virus by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification and nucleic acid lateral flow hybrid assay. **Journal of Fish Diseases**, [S. l.], v. 32, n. 11, p. 911-924, 2009.
- ANDRADE, T. P. D.; CRUZ-FLORES, R.; MAI, H. N.; DHAR, A. K. Novel infectious myonecrosis virus (IMNV) variant is associated with recent disease outbreaks in *Penaeus*

vannamei shrimp in Brazil. **Aquaculture**, [S. l.], v. 554, p. 738159, 2022.

ANDRADE, T. P. D.; SRISUVAN, T.; TANG, K. F. J.; LIGHTNER, D. V. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay using TaqMan probe for detection and quantification of Infectious myonecrosis virus (IMNV). **Aquaculture**, [S. l.], v. 264, n. 1–4, p. 9-15, 2007.

ASCHE, F.; ANDERSON, J. L.; BOTTA, R.; KUMAR, G.; ABRAHAMSEN, E. B.; NGUYEN, L. T.; VALDERRAMA, D. The economics of shrimp disease. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], p. 107397, 2020.

AWEYA, J. J.; ZHENG, Z.; ZHENG, X.; YAO, D.; ZHANG, Y. The expanding repertoire of immune-related molecules with antimicrobial activity in penaeid shrimps: a review. **Reviews in Aquaculture**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 1907-1937, 2021.

BALIARSINGH, S.; DASH, M.; DEWANGAN, N.; HAMEED, A. S. S.; MOHANTY, J.; LEE, Y. S.; PATNAIK, B. B. Upregulation of hepatopancreas associated lectin transcripts in *Macrobrachium rosenbergii* in response to *Vibrio harveyi* and *M. rosenbergii* nodavirus (MrNV). **Journal of Environmental Biology**, [S. l.], v. 40, p. 969–976, 2019.

BARRACCO, M. A. Mecanismos de resistência a doenças em crustáceos. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (org.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. p. 51–74.

BELTRAO, P.; BORK, P.; KROGAN, N. J.; VAN NOORT, V. Evolution and functional cross-talk of protein post-translational modifications. **Molecular Systems Biology**, [S. l.], v. 9, p. 714, 2013.

BERMEJO-JAMBRINA, M.; EDER, J.; HELGERS, L. C.; HERTOOGHS, N.; NIJMEIJER, B. M.; STUNNENBERG, M.; GEIJTENBEEK, T. B. H. C-type lectin receptors in antiviral immunity and viral escape. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 9, p. 1–12, 2018.

BI, J.; NING, M.; XIE, X.; FAN, W.; HUANG, Y.; GU, W.; WANG, W.; WANG, L.; MENG, Q. A typical C-type lectin, perlucin-like protein, is involved in the innate immune defense of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 103, p. 293–301, 2020.

BROWN, G. D.; WILLMENT, J. A.; WHITEHEAD, L. C-type lectins in immunity and homeostasis. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 18, p. 374-389, 2018.

BUENO, S. L. S. Doenças em camarões marinhos. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 1–8, 1991.

CABANSAG, Y. C.; LAZARO, J. V.; YAMBOT, A. V. Quantitative gene expression of C-type lectin in *Litopenaeus vannamei* collected from shrimp farms with white spot syndrome virus disease outbreak. **Philippine Agricultural Scientist**, [S. l.], v. 97, n. 1, p. 92-95, 2014.

CABRERA-STEVENSON, M. J.; SÁNCHEZ-PAZ, A.; MENDOZA-CANO, F.; ESCOBEDO-FREGOSO, C.; ENCINAS-GARCÍA, T.; ELIZONDO-GONZÁLEZ, R.; PEÑA-RODRÍGUEZ, A. Transcriptome analysis reveals differential gene expression associated with

white spot syndrome virus resistance in the shrimp *Litopenaeus vannamei* fed on functional diets. **Aquaculture**, [S. l.], v. 547, 737434, 2022.

CAMARGO, T. R.; ROUBACH, R. Perspectivas da produção aquícola mundial e o potencial da carcinicultura brasileira. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 24–25, 2022.

CERENIUS, L.; LEE, B. L.; SÖDERHÄLL, K. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. **Trends in immunology**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 263–271, 2008.

CERENIUS, L.; SÖDERHÄLL, K. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. **Immunological reviews**, [S. l.], v. 198, p. 116–126, 2004.

CHA, G. H.; LIU, Y.; PENG, T.; HUANG, M. Z.; XIE, C. Y.; XIAO, Y. C.; WANG, W. N. Molecular cloning, expression of a galectin gene in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and the antibacterial activity of its recombinant protein. **Molecular Immunology**, [S. l.], v. 67, n. 2, p. 325–340, 2015.

CHEN, K.; LI, E.; LI, T.; XU, C.; WANG, X.; LIN, H.; QIN, J. G.; CHEN, L. Transcriptome and molecular pathway analysis of the hepatopancreas in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* under chronic low-salinity stress. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 1–22, 2015.

CHEN, Y. H.; HE, J. G. Effects of environmental stress on shrimp innate immunity and white spot syndrome virus infection. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 84, p. 744–755, 2019.

CHEN, Y. Y.; CHEN, J. C.; LIN, Y. C.; KITIKIEW, S.; LI, H. F.; BAI, J. B.; TSENG, K. C.; LIN, B. W.; LIU, P. C.; SHI, Y. Z.; KUO, Y. H.; CHANG, Y. H. Endogenous Molecules Induced by a Pathogen-Associated Molecular Pattern (PAMP) Elicit Innate Immunity in Shrimp. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 9, n. 12, p. e115232, 2014.

COSTA, A. M.; BUGLIONE, C. C.; BEZERRA, F. L.; MARTINS, P. C. C.; BARRACCO, M. A. Immune assessment of farm-reared *Penaeus vannamei* shrimp naturally infected by IMNV in NE Brazil. **Aquaculture**, [S. l.], v. 291, n. 3–4, p. 141–146, 2009.

COSTA, F. H. F.; VALENÇA, N. S. M. S.; SILVA, A. R. B. P.; BEZERRA, G. A.; CAVADA, B. S.; RÁDIS-BAPTISTA, G. Cloning and molecular modeling of *Litopenaeus vannamei* (Penaeidae) C-type lectin homologs with mutated mannose binding domain-2. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 650–664, 2011.

COZER, N. **Interiorização da carcinicultura brasileira**. Curitiba: GIA, 2021. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/interiorizacao-da-carcinicultura-brasileira/>. Acesso em: 31 mar. 2023.

CUMMINGS, R. D.; LIU, F. T. Galectins. In: VARKI, A.; CUMMINGS, R. D.; ESKO, J. D.; FREEZE, H. H.; STANLEY, P.; BERTOZZI, C. R.; HART, G. W.; ETZLER, M. E. (org.). **Essentials of Glycobiology**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009. p. 475–487.

DAM, T. K.; BREWER, C. F. Lectins as pattern recognition molecules: The effects of epitope density in innate immunity. **Glycobiology**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 270–279, 2009.

DANTAS, M. D. A.; CHAVANTE, S. F.; TEIXEIRA, D. I. A.; LIMA, J. P. M. S.; LANZA, D. C. F. Analysis of new isolates reveals new genome organization and a hypervariable region in infectious myonecrosis virus (IMNV). **Virus Research**, [S. l.], v. 203, p. 66–71, 2015.

DANTAS, Márcia Danielle de Araújo. **Estudo do genoma do vírus causador da mionecrose infecciosa em camarões e desenvolvimento de métodos para detecção de polimorfismos**. 2014. 136 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

DENIS, M.; THAYAPPAN, K.; RAMASAMY, S. M.; MUNUSAMY, A. Lectin in Innate Immunity of Crustacea. **Austin Biology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1–7, 2016.

DERIBE, Y. L.; PAWSON, T.; DIKIC, I. Post-translational modifications in signal integration. **Nature Structural and Molecular Biology**, [S. l.], v. 17, p. 666-672, 2010.

DEVI, R. V.; BASILROSE, M. R.; MERCY, P. D. Prospect for lectins in arthropods. **Italian Journal of Zoology**, [S. l.], v. 77, n. 3, p. 254–260, 2010.

ENGERING, A.; HOGERWERF, L.; SLINGENBERGH, J. Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 1–7, 2013.

ESPARZA-LEAL, H. M.; PONCE-PALAFOX, J. T.; CERVANTES-CERVANTES, C. M.; VALENZUELA-QUIÑÓNEZ, W.; LUNA-GONZÁLEZ, A.; LÓPEZ-ÁLVAREZ, E. S.; VÁZQUEZ-MONTOYA, N.; LÓPEZ-ESPINOZA, M.; GÓMEZ-PERAZA, R. L. Effects of low salinity exposure on immunological, physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 944–950, 2019.

ETZLER, M. E.; SUROLIA, A.; CUMMINGS, R. D. L-type Lectins. *In*: VARKI, A.; CUMMINGS, R. D.; ESKO, J. D.; FREEZE, H. H.; STANLEY, P.; BERTOZZI, C. R.; HART, G. W.; ETZLER, M. E. (org.). **Essentials of Glycobiology**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009. p. 403–414.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action**. Roma: FAO, 2020.

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

FARHADI, A.; TANG, S.; HUANG, M.; YU, Q.; XU, C.; LI, E. Identification of key immune and stress related genes and pathways by comparative analysis of the gene expression profile under multiple environmental stressors in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 135, p. 108695, 2023.

FAST, A. W.; LESTER, L. J. **Marine shrimp culture: Principles and practices**. Amsterdam: Elsevier, 1992.

FEIJÓ, R. G.; BRAGA, A. L.; LANES, C. F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; ROMANO, L. A.; KLOSTERHOFF, M. C.; NERY, L. E. M.; MAGGIONI, R.; WASIELESKY, W.; MARINS, L. F. Silencing of Gonad-Inhibiting Hormone Transcripts in *Litopenaeus vannamei* Females by use of the RNA Interference Technology. **Marine Biotechnology**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 117-123, 2016.

FERREIRA, J. G.; TAYLOR, N. G. H.; CUBILLO, A.; LENCART-SILVA, J.; PASTRES, R.; BERGH, Ø.; GUILDER, J. An integrated model for aquaculture production, pathogen interaction, and environmental effects. **Aquaculture**, [S. l.], v. 536, p. 736438, 2021.

FLEGEL, T. W. Research progress on viral accommodation 2009 to 2019. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 112, p. 103771, 2020.

FLEGEL, T. W. A future vision for disease control in shrimp aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 249-266, 2019.

FONSECA, C.; ROCHA, I. P. **Recomendações de Boas Práticas de Manejo na prevenção de Enfermidades**. Pernambuco: ABCC, 2004.

FREEMAN, S. A.; GRINSTEIN, S. Phagocytosis: receptors, signal integration, and the cytoskeleton. **Immunological Reviews**, [S. l.], v. 262, n. 1, p. 193–215, 2014.

FREITAS, Juliana Oliveira de. **Expressão de genes imunológicos em camarões *Litopenaeus vannamei* desafiados experimentalmente com o vírus da mionecrose infecciosa e tratados com dsRNA produzidas *in vivo***. 2020. 68 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

GAA - GLOBAL AQUACULTURE ALLIANCE. **GOAL 2019: Global shrimp production review**. Portsmouth: GAA, 2019.

GABIUS, H. J.; ANDRÉ, S.; JIMÉNEZ-BARBERO, J.; ROMERO, A.; SOLÍS, D. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. **Trends in Biochemical Sciences**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 298–313, 2011.

GABIUS, H. J.; ANDRÉ, S.; KALTNER, H.; SIEBERT, H. C. The sugar code: functional lectinomics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [S. l.], v. 1572, n. 2–3, p. 165–177, 2002.

GAMAGE, D. G.; GUNARATNE, A.; PERIYANNAN, G. R.; RUSSELL, T. G. Applicability of Instability Index for In vitro Protein Stability Prediction. **Protein & Peptide Letters**, [S. l.], v. 26, n. 5, p. 339-347, 2019.

GIANAZZA, E.; EBERINI, I.; PALAZZOLO, L.; MILLER, I. Hemolymph proteins: An overview across marine arthropods and molluscs. **Journal of Proteomics**, [S. l.], v. 245, p. 104294, 2021.

GRAF, C.; GERVAIS, N.; PAZ, M.; AYALA, J. C. Transmissão da síndrome da necrose idiopática muscular (NIM) em *Litopenaeus vannamei*. **Revista da ABCC**, [S. l.], v. 5, n. 4, p.

45–47, 2003.

HAMEED, A. S. S.; MAJEED, S. A.; VIMAL, S.; MADAN, N.; RAJKUMAR, T.; SANTHOSHKUMAR, S.; SIVAKUMAR, S. Studies on the occurrence of infectious myonecrosis virus in pond-reared *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in India. **Journal of Fish Diseases**, [S. l.], v. 40, n. 12, p. 1823-1830, 2017.

HANCOCK, R. E. W.; BROWN, K. L.; MOOKHERJEE, N. Host defence peptides from invertebrates – emerging antimicrobial strategies. **Immunobiology**, [S. l.], v. 211, n. 4, p. 315–322, 2006.

HAUTON, C. The scope of the crustacean immune system for disease control. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 110, n. 2, p. 251–260, 2012.

HAVANAPAN, P. O.; TAENGCHAIYAPHUM, S.; KETTERMAN, A. J.; KRITTANAI, C. Yellow head virus infection in black tiger shrimp reveals specific interaction with granule-containing hemocytes and crustinPm1 as a responsive protein. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 126-136, 2016.

HE, S.; SONG, L.; QIAN, Z.; HOU, F.; LIU, Y.; WANG, X.; PENG, Z.; SUN, C.; LIU, X. Molecular characterization of LvAV in response to white spot syndrome virus infection in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 48-55, 2015.

HEDRICK, R. P. Relationships of the Host, Pathogen, and Environment: Implications for Diseases of Cultured and Wild Fish Populations. **Journal of Aquatic Animal Health**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 107–111, 1998.

HOU, F.; LIU, Y.; HE, S.; WANG, X.; MAO, A.; LIU, Z.; SUN, C.; LIU, X. A galectin from shrimp *Litopenaeus vannamei* is involved in immune recognition and bacteria phagocytosis. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 584-591, 2015.

HOVING, J. C.; WILSON, G. J.; BROWN, G. D. Signalling C-type lectin receptors, microbial recognition and immunity. **Cellular Microbiology**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 185–194, 2014.

HUANG, X.; LI, G.; LIU, B.; ZHOU, C.; WANG, H.; QIN, W.; JIANG, Z.; WAN, X.; REN, Q. Characterization and functional analysis of tandem threonine containing C-type lectin (Thr-Lec) from the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*. **Fish and Shellfish Immunology Reports**, [S. l.], v. 2, p. 100018, 2021.

HUANG, Y. H.; KUMAR, R.; LIU, C. H.; LIN, S. S.; WANG, H. C. A novel C-type lectin LvCTL 4.2 has antibacterial activity but facilitates WSSV infection in shrimp (*L. vannamei*). **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 126, p. 104239, 2022.

HUERTA-CEPAS, J.; SZKLARCZYK, D.; HELLER, D.; HERNÁNDEZ-PLAZA, A.; FORSLUND, S. K.; COOK, H.; MENDE, D. R.; LETUNIC, I.; RATTEI, T.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C.; BORK, P. eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 47, n. 1, p. 309–314, 2019.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro: IBGE, 2018.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2019**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

IBGE. **Produção da pecuária Municipal 2020**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

IGARASHI, M. A. Sinopse sobre os aspectos do potencial da produção e prospectos para o desenvolvimento do cultivo de camarão marinho no Brasil, especialmente no nordeste brasileiro. **Revista Semiárido de Visu**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 308–330, 2022.

ITIS. **Integrated Taxonomic Information System - Report: Litopenaeus vannamei**. [S. l.]: ITIS, 2022. Disponível em: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=551682#null. Acesso em: 4 jul. 2022.

JAFFER, Y. D.; SARASWATHY, R.; ISHFAQ, M.; ANTONY, J.; BUNDELA, D. S.; SHARMA, P. C. Effect of low salinity on the growth and survival of juvenile pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*: A revival. **Aquaculture**, [S. l.], v. 515, p. 734561, 2020.

JL, P. F.; YAO, C. L.; WANG, Z. Y. Immune response and gene expression in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) hemocytes and hepatopancreas against some pathogen-associated molecular patterns. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 563–570, 2009.

JIRAVANICHPAISAL, P.; LEE, B. L.; SÖDERHÄLL, K. Cell-mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. **Immunobiology**, [S. l.], v. 211, n. 4, p. 213–236, 2006.

JOHANSSON, M. W.; KEYSER, P.; SRITUNYALUCKSANA, K.; SÖDERHÄLL, K. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. **Aquaculture**, [S. l.], v. 191, n. 1–3, p. 45–52, 2000.

JOHNSON, V. J. M.; THIRAVIAM, A. G. P.; CHELLATHANGAM, A.; RAMASWAMY, V. D.; RAJAM, B. R. M. Lectins in Penaeid Shrimps: Purification, Characterization, and Biological Significance. In: ELUMALAI, P.; VASEEHARAN, B.; LAKSHMI, S. (org.). **Aquatic Lectins**. Singapore: Springer, 2022. p. 125–167.

JUNKUNLO, K.; PRACHUMWAT, A.; TANGPRASITTIPAP, A.; SENAPIN, S.; BORWORNPIYO, S.; FLEGEL, T. W.; SRITUNYALUCKSANA, K. A novel lectin domain-containing protein (LvCTLD) associated with response of the whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* to yellow head virus (YHV). **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 37, n. 3–4, p. 334–341, 2012

KILPATRICK, D. C. Animal lectins: A historical introduction and overview. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, [S. l.], v. 1572, n. 2–3, p. 187–197, 2002.

KULKARNI, A.; KRISHNAN, S.; ANAND, D.; UTHAMAN, K. S.; OTTA, S. K.; KARUNASAGAR, I.; VALAPPIL, K. R. Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. **Reviews in Aquaculture**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 431–459, 2021.

- LAKHTIN, V.; LAKHTIN, M.; ALYOSHKIN, V. Lectins of living organisms. The overview. **Anaerobe**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 452–455, 2011.
- LE MOULLAC, G.; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. **Aquaculture**, [S. l.], v. 191, n. 1–3, p. 121–131, 2000.
- LETUNIC, I.; KHEDKAR, S.; BORK, P. SMART: recent updates, new developments and status in 2020. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 49, n. D1, p. 458–460, 2021.
- LEU, J. H.; CHANG, C. C.; WU, J. L.; HSU, C. W.; HIRONO, I.; AOKI, T.; JUAN, H. F.; LO, C. F.; KOU, G. H.; HUANG, H. C. Comparative analysis of differentially expressed genes in normal and white spot syndrome virus infected *Penaeus monodon*. **BMC Genomics**, [S. l.], v. 8, n. 120, p. 1–14, 2007.
- LI, C.; WENG, S.; HE, J. WSSV–host interaction: Host response and immune evasion. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 84, p. 558–571, 2019.
- LI, H.; CHEN, Y.; LI, M.; WANG, S.; ZUO, H.; XU, X.; WENG, S.; HE, J.; LI, C. A C-type lectin (LvCTL4) from *Litopenaeus vannamei* is a downstream molecule of the NF- κ B signaling pathway and participates in antibacterial immune response. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 257–263, 2015.
- LI, M.; LI, C.; MA, C.; LI, H.; ZUO, H.; WENG, S.; CHEN, X.; ZENG, D.; HE, J.; XU, X. Identification of a C-type lectin with antiviral and antibacterial activity from pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 231–240, 2014.
- LI, Y.; PAN, L.; YU, J. The injection of one recombinant C-type lectin (LvLec) induced the immune response of hemocytes in *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 124, p. 324–331, 2022.
- LIANG, Z.; YANG, L.; ZHENG, J.; ZUO, H.; WENG, S.; HE, J.; XU, X. A low-density lipoprotein receptor (LDLR) class A domain-containing C-type lectin from *Litopenaeus vannamei* plays opposite roles in antibacterial and antiviral responses. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 92, p. 29–34, 2019.
- LIGHTNER, D. V. **A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp**. Baton Rouge: World Aquaculture Society. 1996. 305 p.
- LIGHTNER, D. V.; PANTOJA, C. R.; POULOS, B. T.; TANG, K. F. J.; REDMAN, R. M.; ANDRADE, T. P.; BONAMI, J. R. **Infectious myonecrosis: New disease in Pacific white shrimp**. Portsmouth: GOAL, 2004. Disponível em: <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/infectious-myonecrosis-new-disease-in-pacific-white-shrimp/>. Acesso em: 2 jun. 2020.
- LIGHTNER, D. V.; REDMAN, R. M.; PANTOJA, C. R.; TANG, K. F. J.; NOBLE, B. L.; SCHOFIELD, P.; MOHNEY, L. L.; NUNAN, L. M.; NAVARRO, S. A. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate**

Pathology, [S. l.], v. 110, n. 2, p. 174-183, 2012.

LIMA, J. G. S.; TEIXEIRA, D. G.; FREITAS, T. T.; LIMA, J. P. M. S.; LANZA, D. C. F. Evolutionary origin of 2A-like sequences in Totiviridae genomes. **Virus Research**, [S. l.], v. 259, p. 1–9, 2019.

LIN, Y. C.; LI, C. C.; MORNI, W. Z. W.; SUHAILI, A. S. N. A.; KUO, Y. H.; CHANG, Y. H.; CHEN, L. L.; TSUI, W. C.; CHEN, Y. Y.; HUANG, C. L. Modulation of the innate immune system in white shrimp *Litopenaeus vannamei* following long-term low salinity exposure. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 324–331, 2012.

LITTLE, T. J.; HULTMARK, D.; READ, A. F. Invertebrate immunity and the limits of mechanistic immunology. **Nature Immunology**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 651–654, 2005.

LIU, M. J.; LIU, S.; LIU, H. P. Recent insights into hematopoiesis in crustaceans. **Fish and Shellfish Immunology Reports**, [S. l.], v. 2, p. 100040, 2021.

LIU, S.; ZHENG, S. C.; LI, Y. L.; LI, J.; LIU, H. P. Hemocyte-Mediated Phagocytosis in Crustaceans. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 11, p. 1–9, 2020.

LOH, S. H.; PARK, J. Y.; CHO, E. H.; NAH, S. Y.; KANG, Y. S. Animal lectins: potential receptors for ginseng polysaccharides. **Journal of Ginseng Research**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 1–9, 2017.

LOPES, D. N. M.; PINTO, L. J. L. B.; CAJADO, F. J. L.; ARAÚJO, G. S.; SILVA, J. W. A. Indicação geográfica no Brasil: O caso do camarão da Costa Negra. **Revista INGI**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 306–319, 2019.

LOW, C. F.; CHONG, C. M. Peculiarities of innate immune memory in crustaceans. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 104, p. 605-612, 2020.

LU, Y.; SU, F.; LI, Q.; ZHANG, J.; LI, Y.; TANG, T.; HU, Q.; YU, X. Q. Pattern recognition receptors in *Drosophila* immune responses. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 102, p. 103468, 2020.

LUO, J.; CHEN, Y.; HUANG, Y.; FENG, J.; YUAN, Y.; JIAN, J.; CAI, S.; YANG, S. A novel C-type lectin for *Litopenaeus vannamei* involved in the innate immune response against *Vibrio* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 135, p. 108621, 2023.

LUO, M.; YANG, L.; WANG, Z. A.; ZUO, H.; WENG, S.; HE, J.; XU, X. A novel C-type lectin with microbiostatic and immune regulatory functions from *Litopenaeus vannamei*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 93, p. 361–368, 2019.

LUO, T.; YANG, H.; LI, F.; ZHANG, X.; XU, X. Purification, characterization and cDNA cloning of a novel lipopolysaccharide-binding lectin from the shrimp *Penaeus monodon*. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 30, n. 7, p. 607–617, 2006.

LUO, Z.; ZHANG, J.; LI, F.; ZHANG, X.; LIU, C.; XIANG, J. Identification of a novel C-type lectin from the shrimp *Litopenaeus vannamei* and its role in defense against pathogens infection. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, [S. l.], v. 29, n. 5, p. 942–951,

2011.

MA, T. H. T.; TIU, S. H. K.; HE, J. G.; CHAN, S. M. Molecular cloning of a C-type lectin (LvLT) from the shrimp *Litopenaeus vannamei*: Early gene down-regulation after WSSV infection. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 430–437, 2007.

MADRID, R. M. A crise econômica da carcinicultura . **Revista Panorama da Aqüicultura**, [S. l.], v. 90, n. 1, p. 1–9, 2005.

MAI, H. N.; HANGGONO, B.; CARO, L. F. A.; KOMARUDDIN, U.; NUR’AINI, Y. L.; DHAR, A. K. Novel infectious myonecrosis virus (IMNV) genotypes associated with disease outbreaks on *Penaeus vannamei* shrimp farms in Indonesia. **Archives of Virology**, [S. l.], v. 164, n. 12, 2019.

MALAMUD, F. O avanço da carcinicultura marinha em águas continentais. **Aquaculture BR**, [S. l.], p. 14–18, 2017.

MARQUES, M. R. F.; BARRACCO, M. A. Lectins, as non-self-recognition factors, in crustaceans. **Aquaculture**, [S. l.], v. 191, n. 1–3, p. 23–44, 2000.

MCFADDEN, G.; MOHAMED, M. R.; RAHMAN, M. M.; BARTEE, E. Cytokine determinants of viral tropism. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 9, p. 645–655, 2009.

MILLARD, R. S.; ELLIS, R. P.; BATEMAN, K. S.; BICKLEY, L. K.; TYLER, C. R.; VAN AERLE, R.; SANTOS, E. M. How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on White Spot Disease. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 186, p. 107369, 2021.

MOLES, P.; BUNGE, J. **Shrimp Farming in Brazil: An Industry Overview**. Roma: FAO. 2002.

NAIM, S.; BROWN, J. K.; NIBERT, M. L. Genetic diversification of penaeid shrimp infectious myonecrosis virus between Indonesia and Brazil. **Virus Research**, [S. l.], v. 189, p. 97–105, 2014.

NAIM, S.; TANG, K. F. J.; YANG, M.; LIGHTNER, D. V.; NIBERT, M. L. Extended genome sequences of penaeid shrimp infectious myonecrosis virus strains from Brazil and Indonesia. **Archives of Virology**, [S. l.], v. 160, n. 6, p. 1579–1583, 2015.

NATORI, M. M.; SUSSEL, F. R.; SANTOS, E. C. B.; PREVIERO, T. C.; VIEGAS, E. M. M.; GAMEIRO, A. H. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: Avanços tecnológicos e desafios. **Informações Econômicas**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 61–73, 2011.

NEVES, S. R. A.; MARTINS, P. C. C. Surgimento das doenças virais na Carcinicultura Brasileira: impactos e estratégias da gestão de saúde. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 61925–61944, 2021.

NICKEL, W.; RABOUILLE, C. Mechanisms of regulated unconventional protein secretion. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 148–155, 2009.

NOMAGUCHI, M.; FUJITA, M.; MIYAZAKI, Y.; ADACHI, A. Viral tropism. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 3, n. 281, p. 4–4, 2012.

NUNES, A. J. P. O Cultivo do Camarão *Litopenaeus vannamei* em Águas Oligohalinas. **Panorama da Aqüicultura**, [S. l.], v. 11, n. 66, p. 26–35, 2001.

NUNES, A. J. P.; MADRID, R. M.; ANDRADE, T. P. Carcinicultura marinha no Brasil: Passado, presente e futuro. **Panorama da Aqüicultura**, [S. l.], v. 124, n. 1, p. 26–33, 2011.

NUNES, A. J. P.; MARTINS, P. C. C.; GESTEIRA, T. C. V. Carcinicultura ameaçada: Produtores sofrem com as mortalidades decorrentes do Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV). **Panorama da Aqüicultura**, [S. l.], v. 14, n. 83, p. 37–51, 2004.

NUNES, A. J. P.; ROCHA, I. P. Overview and latest developments in shrimp and tilapia aquaculture in Northeast Brazil. **World Aquaculture**, [S. l.], p. 10-17, 2015.

OLIVEIRA, R. A. C.; ALMEIDA, R. V. M.; DANTAS, M. D. A.; CASTRO, F. N.; LIMA, J. P. M. S.; LANZA, D. C. F. In silico single strand melting curve: A new approach to identify nucleic acid polymorphisms in Totiviridae. **BMC Bioinformatics**, [S. l.], v. 15, n. 1, 2014.

OWJI, H.; NEZAFAT, N.; NEGAHDARIPOUR, M.; HAJIEBRAHIMI, A.; GHASEMI, Y. A comprehensive review of signal peptides: Structure, roles, and applications. **European Journal of Cell Biology**, [S. l.], v. 97, n. 6, p. 422–441, 2018.

PEDRAZZANI, A. S.; COZER, N.; QUINTILIANO, M. H.; TAVARES, C. P. S.; SILVA, U. A. T.; OSTRENSKY, A. Non-Invasive Methods for Assessing the Welfare of Farmed White-Leg Shrimp (*Penaeus vannamei*). **Animals**, [S. l.], v. 13, n. 5, p. 807, 2023.

PEES, B.; YANG, W.; ZÁRATE-POTES, A.; SCHULENBURG, H.; DIERKING, K. High Innate Immune Specificity through Diversified C-Type Lectin-Like Domain Proteins in Invertebrates. **Journal of Innate Immunity**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 129–142, 2016.

PÉREZ-FARFANTE, I.; KENSLEY, B. F. **Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world : Keys and diagnoses for the families and genera**. Paris: Museum National D'Historie Naturelle, 1997.

PILOTTO, M. R.; ARGENTA, N.; FORTE, J. M.; HOSTINS, B.; MENEZES, F. G. R.; MAGGIONI, R.; SOUSA, O. V.; WASIELESKY-JR, W.; ROSA, R. D.; PERAZZOLO, L. M. Environmental rearing conditions are key determinants of changes in immune gene expression patterns in shrimp midgut. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 106, p. 103618, 2020.

POULOS, B. T.; TANG, K. F. J.; PANTOJA, C. R.; BONAMI, J. R.; LIGHTNER, D. V. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. **Journal of General Virology**, [S. l.], v. 87, n. 4, p. 987-996, 2006.

PRASAD, K. P.; SHYAM, K. U.; BANU, H.; JEENA, K.; KRISHNAN, R. Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) – An alarming viral pathogen to Penaeid shrimps. **Aquaculture**, [S. l.], v. 477, p. 99-105, 2017.

PRIOR, S.; BROWDY, C. L.; SHEPARD, E. F.; LARAMORE, R.; PARNELL, P. G. Controlled bioassay systems for determination of lethal infective doses of tissue homogenates containing Taura syndrome or white spot syndrome virus. **Diseases of Aquatic Organisms**, [S. l.], v. 54, p. 89–96, 2003.

QIU, W.; CHEN, F.; CHEN, R.; LI, S.; ZHU, X.; XIONG, M.; WANG, K. J. A New C-Type Lectin Homolog SpCTL6 Exerting Immunoprotective Effect and Regulatory Role in Mud Crab *Scylla paramamosain*. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 12, p. 1045, 2021.

RABOUILLE, C. Pathways of Unconventional Protein Secretion. **Trends in Cell Biology**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 230–240, 2017.

RAJEEV, R.; ADITHYA, K. K.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J. Healthy microbiome: a key to successful and sustainable shrimp aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 238–258, 2021.

REID, G. K.; GURNEY-SMITH, H. J.; MARCOGLIESE, D. J.; KNOWLER, D.; BENFEY, T.; GARBER, A. F.; FORSTER, I.; CHOPIN, T.; BREWER-DALTON, K.; MOCCIA, R. D.; FLAHERTY, M.; SMITH, C. T.; SILVA, S. Climate change and aquaculture: considering biological response and resources. **Aquaculture Environment Interactions**, [S. l.], v. 11, p. 569–602, 2019.

ROMERO, I. G.; RUVINSKY, I.; GILAD, Y. Comparative studies of gene expression and the evolution of gene regulation. **Nature Reviews Genetics**, [S. l.], v. 13, p. 505–516, 2012.

ROY, S.; BOSSIER, P.; NOROUZITALLAB, P.; VANROMPAY, D. Trained immunity and perspectives for shrimp aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. 2351–2370, 2020.

RUBEENA, A. S.; PREETHAM, E. Antimicrobial properties and phenoloxidase activation of the lectin isolated from kadal shrimp (*Metapenaeus dobsoni*). **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 90, p. 118–125, 2019.

SÁ, M. V. C.; CAVALCANTE, D. H.; LIMA, F. R. S. Dissolution rates of hydrated lime, Ca(OH)₂ in fresh, oligohaline, mesohaline and euhaline waters and its significance for liming of shrimp culture ponds. **Aquaculture Research**, [S. l.], v. 50, n. 6, p. 1618–1625, 2019.

SÁNCHEZ-SALGADO, J. L.; PEREYRA, M. A.; AGUNDIS, C.; VIVANCO-ROJAS, O.; SIERRA-CASTILLO, C.; ALPUCHE-OSORNO, J. J.; ZENTENO, E. Participation of lectins in crustacean immune system. **Aquaculture Research**, [S. l.], v. 48, n. 8, p. 4001–4011, 2017.

SÁNCHEZ-SALGADO, J. L.; PEREYRA, M. A.; ALPUCHE-OSORNO, J. J.; ZENTENO, E. Pattern recognition receptors in the crustacean immune response against bacterial infections. **Aquaculture**, [S. l.], v. 532, p. 735998, 2021.

SANTOS, B. L. S.; MENDES, P. P. Análise estatística das variáveis de cultivo do camarão-cinza *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 128–142, 2007.

SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. **Nature Protocols**, [S. l.], v. 3, n. 6, p. 1101–1108, 2008.

SCHWARZ, F.; AEBI, M. Mechanisms and principles of N-linked protein glycosylation. **Current Opinion in Structural Biology**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 576-582, 2011.

SEIFFERT, W. Q.; WINCKLER, S.; MAGGIONI, D. A mancha branca em Santa Catarina. **Panorama da Aquicultura**, [S. l.], v. 15, n. 87, p. 51–53, 2005.

SENA PIN, 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**, [S. l.], v. 266, n. 1–4, p. 32–38, 2007.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, [S. l.], v. 14, n. 11, p. 53–62, 2004.

SILVA, S. M. B. C.; SILVA, A. D. R.; LAVANDER, H. D.; CHAVES, T. C. B.; PEIXOTO, S.; GÁLVEZ, A. O.; COIMBRA, M. R. M. Vertical transmission of Infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, [S. l.], v. 459, p. 216-222, 2016.

SILVA, S. M. B. C.; LAVANDER, H. D.; LUNA, M. M. S.; SILVA, A. O. M. E.; GÁLVEZ, A. O.; COIMBRA, M. R. M. *Artemia franciscana* as a vector for infectious myonecrosis virus (IMNV) to *Litopenaeus vannamei* juvenile. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 126, p. 1–5, 2015a.

SILVA, S. M. B. C.; ROCHA, J. L.; MARTINS, P. C. C.; GÁLVEZ, A. O.; SANTOS, F. L.; ANDRADE, H. A.; COIMBRA, M. R. M. Experimental infection of infectious myonecrosis virus (IMNV) in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture International**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 563–576, 2015b.

SIVAKAMAVALLI, J.; VASEEHARAN, B. Purification, characterization and functional role of lectin from green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 67, p. 64–70, 2014.

SÖDERHÄLL, I. Crustacean hematopoiesis. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 58, p. 129–141, 2016.

SONG, F.; CHEN, G. L.; LU, K. C.; FAN, J. Q.; YAN, M. T.; HE, H. H.; LIAN, Y. Y.; ZHANG, C. Z.; CHEN, Y. H. Identification and functional characterization of a C-type lectin gene from *Litopenaeus vannamei* that is associated with ER-stress response. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 93, p. 977-985, 2019.

SONG, Y. L.; YU, C. I.; LIEN, T. W.; HUANG, C. C.; LIN, M. N. Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 14, n. 4, 2003.

SOUSA-JÚNIOR, J. P.; TEIXEIRA, K. H.; LIMA, R. C. Camarão brasileiro: Uma análise comportamental dos preços brasileiro e internacional. **Revista de Política Agrícola**, [S. l.], n. 3, p. 66-75, 2007.

VALENTE, C. S.; WAN, A. H. L. *Vibrio* and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 181, p. 107527, 2021.

SUN, J.; WANG, L.; WANG, B.; GUO, Z.; LIU, M.; JIANG, K.; LUO, Z. Purification and characterisation of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 292–299, 2007.

SUNARTO, A.; NAIM, S. Totiviruses of crustaceans. *In*: KIBERGE, F. S. B.; GODOY, M. G. **Aquaculture Virology**. Londres: Elsevier, 2016. p. 425-439.

SUTHAR, M. S.; BRASSIL, M. M.; BLAHNIK, G.; MCMILLAN, A.; RAMOS, H. J.; PROLL, S. C.; BELISLE, S. E.; KATZE, M. G.; GALE, M. A Systems Biology Approach Reveals that Tissue Tropism to West Nile Virus Is Regulated by Antiviral Genes and Innate Immune Cellular Processes. **PLOS Pathogens**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. e1003168, 2013.

TANG, J.; OCHOA, W. F.; SINKOVITS, R. S.; POULOS, B. T.; GHABRIAL, S. A.; LIGHTNER, D. V.; BAKER, T. S.; NIBERT, M. L. Infectious myonecrosis virus has a totivirus-like, 120-subunit capsid, but with fiber complexes at the fivefold axes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 105, n. 45, p. 17526–17531, 2008.

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). **Diseases of Aquatic Organisms**, [S. l.], v. 63, n. 2–3, 2005.

TAO, M.; ZHOU, H.; LUO, K.; LU, J.; ZHANG, Y.; WANG, F. Quantitative serum proteomics analyses reveal shrimp responses against WSSV infection. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 93, p. 89–92, 2019.

TASSANAKAJON, A.; RIMPHANITCHAYAKIT, V.; VISETNAN, S.; AMPARYUP, P.; SOMBOONWIWAT, K.; CHAROENSAPSRI, W.; TANG, S. Shrimp humoral responses against pathogens: antimicrobial peptides and melanization. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 80, p. 81–93, 2018.

TAUKHID, T.; NUR'AINI, Y. L. Infectious myonecrosis virus (IMNV) in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in Indonesia. **Indonesian Aquaculture Journal**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 139–146, 2008.

TIAN, Y.; CHEN, T.; HUANG, W.; LUO, P.; HUO, D.; YUN, L.; HU, C.; CAI, Y. A new L-type lectin (LvLTLC1) from the shrimp *Litopenaeus vannamei* facilitates the clearance of *Vibrio harveyi*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 73, p. 185–191, 2018.

VARGAS-ALBORES, F.; GUZMÁN, M. A.; OCHOA, J. L. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 106, n. 2, p. 299–303, 1993.

VASTA, G.; AHMED, H. Introduction to Animal Lectins. *In*: VASTA, G. R.; AHMED, H. (org.). **Animal Lectins: A Functional View**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 3–8.

- VASTA, G. R.; AHMED, H.; ODOM, E. W. Structural and functional diversity of lectin repertoires in invertebrates, protochordates and ectothermic vertebrates. **Current Opinion in Structural Biology**, [S. l.], v. 14, n. 5, p. 617–630, 2004.
- VASTA, G. R.; WANG, J. X. Galectin-mediated immune recognition: Opsonic roles with contrasting outcomes in selected shrimp and bivalve mollusk species. **Developmental and comparative immunology**, [S. l.], v. 110, p. 103721, 2020.
- VIANA, J. T.; FREITAS, J. O.; ROCHA, R. S.; MAGGIONI, R.. Variantes virais: uma ameaça à carcinicultura. **Aquaculture Brasil**, [S. l.], v. 25, p. 24–30, 2022.
- VIANA, J. T.; ROCHA, R. S.; MAGGIONI, R. Structural and functional diversity of lectins associated with immunity in the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 129, p. 152–160, 2022.
- VIDAL, M. F. Carcinicultura. **Caderno Setorial ETENE**. [S. l.], v. 7, n. 222, p. 1-10, 2022.
- VIEIRA-GIRÃO, P. R. N.; ROCHA, I. R. C. B.; GAZZIENO, M.; VIEIRA, P. R. N.; LUCENA, H. M. R.; COSTA, F. H. F.; RÁDIS-BAPTISTA, G. Low Salinity Facilitates the Replication of Infectious Myonecrosis Virus and Viral Co-Infection in the Shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Aquaculture Research & Development**, [S. l.], v. 6, n. 02, p. 1–6, 2015.
- VOGT, G. Cytopathology and immune response in the hepatopancreas of decapod crustaceans. **Diseases of Aquatic Organisms**, [S. l.], v. 138, p. 41–88, 2020.
- WANG, P.; LIU, H.; ZHAO, S.; YU, S.; XIE, S.; HUA, S.; YAN, B.; XING, C.; GAO, H. Hypoxia stress affects the physiological responses, apoptosis and innate immunity of Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 122, p. 206-214, 2022.
- WANG, X. W.; VASTA, G. R.; WANG, J. X. The functional relevance of shrimp C-type lectins in host-pathogen interactions. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 109, p. 103708, 2020.
- WANG, X. W.; WANG, J. X. Diversity and multiple functions of lectins in shrimp immunity. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 39, n.1-2, p. 27-38, 2013a.
- WANG, X. W.; WANG, J. X. Pattern recognition receptors acting in innate immune system of shrimp against pathogen infections. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 34, n. 4, p. 981–989, 2013b.
- WANG, X. W.; ZHAO, X. F.; WANG, J. X. C-type Lectin Binds to β -Integrin to Promote Hemocytic Phagocytosis in an Invertebrate. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 289, n. 4, p. 2405–2414, 2014.
- WANG, Y. C.; CHANG, P. S.; CHEN, H. Y. Tissue expressions of nine genes important to immune defence of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 1161-1177, 2007.

WEI, X.; LIU, X.; YANG, J.; FANG, J.; QIAO, H.; ZHANG, Y.; YANG, J. Two C-type lectins from shrimp *Litopenaeus vannamei* that might be involved in immune response against bacteria and virus. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 132–140, 2012.

WOAH. **Animal Diseases**. Paris, 2022a. Disponível em: https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/?_tax_animal=aquatics%2Ccrustaceans&_tax_diseases=oie-listed. Acesso em: 5 jul. 2022.

WOAH. **Aquatic Animal Health Code**. Paris, 2022b. Disponível em: https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-code-online-access/?id=169&L=1&htmfile=chapitre_infectious_myonecrosis.htm. Acesso em: 13 jul. 2022.

XING, K.; LIU, Y.; YAN, C.; ZHOU, Y.; ZHANG, R.; SUN, Y.; ZHANG, J. Transcriptomic analysis of *Neocaridina denticulate sinensis* hepatopancreas indicates immune changes after copper exposure. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 121, p. 23–30, 2022.

XIU, Y.; CHANG, P. S.; CHEN, H. Y. A novel C-type lectin is involved in the innate immunity of *Macrobrachium nipponense*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 50, p. 117–126, 2016.

XU, S.; WANG, L.; WANG, X. W.; ZHAO, Y. R.; BI, W. J.; ZHAO, X. F.; WANG, J. X. I-Type lectin from the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 397–405, 2014.

YANG, C. H.; MA, K. Y.; CHU, K. H.; CHAN, T. Y. Making sense of the taxonomy of the most commercially important shrimps *Penaeus* Fabricius, 1798 s. l. (Crustacea: Decapoda: Penaeidae), a way forward. **Aquaculture**, [S. l.], v. 563, p. 738955, 2023.

YANG, S.; LUO, J.; HUANG, Y.; YUAN, Y.; CAI, S. Effect of sub-lethal ammonia and nitrite stress on autophagy and apoptosis in hepatopancreas of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 130, p. 72–78, 2022.

YEH, S. P.; CHEN, Y. N.; HSIEH, S. L.; CHENG, W.; LIU, C. H. Immune response of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after a concurrent infection with white spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 582–588, 2009.

ZELENSKY, A. N.; GREARY, J. E. Comparative analysis of structural properties of the C-type-lectin-like domain (CTLD). **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 466–477, 2003.

ZELENSKY, A. N.; GREARY, J. E. The C-type lectin-like domain superfamily. **The FEBS Journal**, [S. l.], v. 272, n. 24, p. 6179–6217, 2005.

ZHANG, W.; ZHANG, Z.; UM, C.; LI, R.; YE, Y.; ZHANG, H.; SONG, W.; SHI, C.; LIU, L.; WANG, C. Molecular cloning, characterization, and expression of a C-type lectin from *Scylla*

paramamosain, which might be involved in the innate immune response. **Fish & Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 93, p. 251–257, 2019a.

ZHANG, X.; PAN, L.; YU, J.; HUANG, H. One recombinant C-type lectin (LvLec) from white shrimp *Litopenaeus vannamei* affected the haemocyte immune response in vitro. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 89, p. 35–42, 2019b.

ZHANG, Y.; QIU, L.; SONG, L.; ZHANG, H.; ZHAO, J.; WANG, L.; YU, Y.; LI, C.; LI, F.; XING, K.; HUANG, B. Cloning and characterization of a novel C-type lectin gene from shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 183–192, 2009.

ZHAO, Q.; PAN, L.; REN, Q.; HU, D. Digital gene expression analysis in hemocytes of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* in response to low salinity stress. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 400–407, 2015.

ZHAO, Z. Y.; XIN, Z. X.; XU, X. P.; WENG, S. P.; RAO, X. Y.; DAI, Z. X.; LUO, Y. W.; YANG, G.; LI, Z. S.; GUAN, H. J.; LI, S. D.; CHAN, S. M.; YU, X. Q.; HE, J. G. A Novel C-Type Lectin from the Shrimp *Litopenaeus vannamei* Possesses Anti-White Spot Syndrome Virus Activity. **Journal of Virology**, [S. l.], v. 83, n. 1, p. 347–356, 2009.

ZHENG, J.; MAO, Y.; SU, Y.; WANG, J. Identification and functional characterization of a novel C-type lectin from the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 530, n. 3, p. 547–553, 2020.

ZHU, J. J.; ARZT, J.; PUCKETTE, M. C.; SMOLIGA, G. R.; PACHECO, J. M.; RODRIGUEZ, L. L. Mechanisms of Foot-and-Mouth Disease Virus Tropism Inferred from Differential Tissue Gene Expression. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. e64119, 2013.