



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

INGRID LUANA DA SILVEIRA SIQUEIRA

Sanidade de lagostas espinhosas do gênero *Panulirus* no litoral cearense

FORTALEZA

2024

INGRID LUANA DA SILVEIRA SIQUEIRA

Sanidade de lagostas espinhosas do gênero *Panulirus* no litoral cearense

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais. Área de concentração: Oceanografia Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.
Coorientadora: Dra. Juliana de Carvalho Gaeta.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S63s Siqueira, INGRID LUANA DA SILVEIRA.
Sanidade de lagostas espinhosas do gênero Panulirus no litoral cearense / INGRID
LUANA DA SILVEIRA Siqueira. – 2024.
95 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maggioni.
Coorientação: Profa. Dra. Juliana de Carvalho Gaeta.

1. Lagosta. 2. Histologia. 3. Imunologia. I. Título.

CDD 551.46



ATA DA SESSÃO DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

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

Como parte das exigências para concessão do grau de doutora, às 09:00 horas do dia 16 de Maio de 2024, realizou-se a sessão pública da defesa de tese de doutorado da aluna INGRID LUANA DA SILVEIRA SIQUEIRA. O trabalho tinha como título: "Sanidade de lagostas espinhosas do gênero Panulirus no litoral cearense".

Compunham a banca examinadora os professores(as) doutores(as) RODRIGO MAGGIONI, orientador, FRANCISCA GLEIRE RODRIGUES DE MENEZES, CARMINDA SANDRA BRITO SALMITO VANDERLEY, RAFAEL DOS SANTOS ROCHA e RAUL CRUZ IZQUIERDO. A candidata expôs oralmente a tese, em seguida os membros da banca procederam à arguição, e a sessão foi finalizada com a APROVAÇÃO, por parte da banca examinadora, do trabalho sem ressalvas.

Foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da referida banca:

RODRIGO MAGGIONI
UFC - Orientador

FRANCISCA GLEIRE RODRIGUES DE
MENEZES
UFC - Examinadora Externa ao Programa

CARMINDA SANDRA BRITO SALMITO
VANDERLEY
UECE - Examinadora Externa à Instituição

RAFAEL DOS SANTOS ROCHA
UFC - Examinador Externo à Instituição

RAUL CRUZ IZQUIERDO
FUNCAP - Examinador Externo à Instituição

A minha mãe, vovó e vovô.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por nesta caminhada nunca ter me deixado desistir e guiado para conquistas que nunca imaginei alcançar.

Aos meus pais e familiares. Por sempre mostrarem que nosso maior bem e herança é a educação.

À minha irmã que sempre me apoiou, escutou e acreditou nos meus projetos.

Ao Edu, por sua fiel torcida.

Ao Rafael, por toda ajuda, ensinamentos e por me colocar no rumo certo.

À Juliana Freitas, pela amizade, por sempre escutar meus desabafos, ser companhia nos perrengues, ajudar na confecção das lâminas histológicas e discutir sobre as imagens encontradas, vibrando comigo quando conseguíamos boa resolução.

Ao meu orientador Rodrigo Maggioni e coorientadora Juliana Gaeta que pacientemente permitiram que este trabalho acontecesse e por todos os ensinamentos.

À banca examinadora que contribuiu para a melhoria do trabalho, com importantes apontamentos e fundamentações.

Aos meus amigos do CEDECAM, Graça, Jonathan, Hudson e todos que acompanharam os cafés, permitindo boas risadas e tornaram esta caminhada mais suave e construtiva.

Aos meus amigos da EMATERCE, Karol, João, Damásio, Lucas, Bebeta, Sebastião e Senhor Menezes, apesar de não compreenderem meus estudos sempre estavam disponíveis para aliviar no trabalho e auxiliarem no que fosse necessário.

À CAPES pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa no início do doutorado.

"Só se nos detivermos a pensar nas pequenas coisas chegaremos a compreender as grandes." (JOSE SARAMAGO).

RESUMO

Lagostas espinhosas são um importante recurso pesqueiro explorado no Brasil. Embora esse seja o tema central em vários estudos nos últimos anos, poucos abordaram sua sanidade e aspectos imunológicos, gerando uma lacuna para o entendimento de seu desenvolvimento em ambiente natural. A ausência de estudos que caracterizem os parâmetros bioquímicos e seus tecidos quando saudáveis dificulta a identificação de lagostas enfermas em seu estado inicial, visto que apenas em nível avançado apresentam-se moribundas. Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar aspectos imunológicos e histológicos de lagostas da espécie *P. argus* e *P. laevicauda* com a finalidade de descrever as características de organismos saudáveis e realizar varredura para patógenos que ocorrem no gênero. Para atingir tal objetivo foram utilizadas 24 amostras saudáveis coletadas na Praia de Redonda (Icapuí) e Praia do Meireles (Fortaleza) e 478 patas coletadas na indústria pesqueira em Fortaleza, realizando a caracterização por meio da observação dos tecidos fixados em lâminas histológicas, de parâmetros imunológicos e análise molecular para o vírus da Síndrome da Mancha Branca, Pav1 e microsporídeo. Dessa forma, foi possível elucidar alguns questionamentos presentes sobre o estado de saúde do estoque pesqueiro de lagostas, podendo ser analisado estruturas e células dos tecidos saudáveis do hepatopâncreas, glândula antenal, músculo, coração, brânquias e intestino. Pôde ser detectado um mecanismo de proteção através da observação de um fagócito e infiltração hemocítica no coração e verificamos a presença de parasitas no intestino. As análises histológicas mostraram que os tecidos das espécies estudadas são similares aos encontrados para lagostas da família *Palinuridae*. Os estudos imunológicos evidenciaram menores parâmetros para indivíduos da espécie *P. argus* quando comparados a espécie *P. laevicauda*. Indivíduos jovens também apresentaram valores imunológicos inferiores aos observados para indivíduos adultos. A varredura molecular não apresentou evidências de infecção para os vírus analisados e o microsporídeo investigado. Este é o primeiro estudo que busca compreender o estado de saúde das populações de lagostas em ambiente natural.

Palavras-chave: lagosta; histologia; imunologia.

ABSTRACT

Spiny lobsters are an important fishing resource exploited in Brazil. Although this is the central theme in several studies in recent years, few have addressed its health and immunological aspects, creating a gap in understanding its development in a natural environment. The lack of studies that characterize the biochemical parameters and their tissues when healthy makes it difficult to identify sick lobsters in their initial state, since only at an advanced level do they become moribund. Given this context, this work aimed to evaluate immunological and histological aspects of lobsters of the species *P. argus* and *P. laevicauda* with the purpose of describing the characteristics of healthy organisms and scanning for pathogens that occur in the genus. To achieve this objective, 24 healthy samples collected in Praia de Redonda (Icapuí) and Praia do Meireles (Fortaleza) and 478 paws collected in the fishing industry in Fortaleza were used, carrying out the characterization through observation of the tissues fixed on histological slides, of parameters immunological and molecular analysis for White Spot Syndrome virus, Pav1 and microsporidium. In this way, it was possible to clarify some questions regarding the health status of the lobster fishing stock, enabling the analysis of structures and cells of the healthy tissues of the hepatopancreas, antennal gland, muscle, heart, gills and intestine. A protective mechanism can be detected by observing a phagocyte and hemocytic infiltration in the heart and checking the presence of parasites in the intestine. Histological analyzes showed that the tissues of the studied species are similar to those found in lobsters from the *Palinuridae* family. Immunological studies showed lower parameters for individuals of the *P. argus* species when compared to the *P. laevicauda* species. Young individuals also presented immunological values lower than those observed for adult individuals. Molecular scanning showed no evidence of infection for the viruses analyzed and the microsporidium investigated. This is the first study that seeks to understand the health status of lobster populations in a natural environment.

Keywords: lobster; histology; imunology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Segmentos do pereiópode.....	19
Figura 2 –	Anatomia da lagosta.....	20
Figura 3 –	Órgãos da lagosta.....	21
Figura 4 –	Local de coleta.....	33
Figura 5 –	Coleta de hemolinfa.....	35
Figura 6 –	Exemplar de <i>P. laevicauda</i> antes da dissecação. Vista ventral (A) e dorsal (B).....	36
Figura 7 –	Exemplar de <i>P. laevicauda</i> mostrando: camada muscular encontrada abaixo da carapaça (A) e detalhe dos órgãos após a retirada da musculatura (B).....	37
Figura 8 –	Vista dorsal mostrando o corte longitudinal na cauda para retirada do intestino.....	38
Figura 9 –	Vista dorsal de <i>P. laevicauda</i> evidenciando o hepatopâncreas com coloração amarelada. Observação do Hepatopâncreas, órgão com coloração amarelada. A seta indica a glândula antenal.....	38
Figura 10 –	Vista dorsal mostrando o corte longitudinal na cauda para retirada do intestino.....	39
Figura 11 –	Fotomicrografia do hepatopâncreas de <i>P. laevicauda</i>	44
Figura 12 –	Fotomicrografia do hepatopâncreas de <i>P. laevicauda</i> mostrando o lúmen do túbulo hepatopancreático (A), fagócito fixo (B), túbulo hepatopancreático (C) e espaço hemal entre os túbulos (D).....	45
Figura 13 –	Fotomicrografia do hepatopâncreas de <i>P. argus</i> mostrando as mesmas estruturas observadas na figura anterior, lúmen do túbulo hepatopancreático (A), fagócito fixo (B), túbulo hepatopancreático (C) e espaço hemal entre os túbulos (D).....	46
Figura 14 –	Fotomicrografia do túbulo hepatopancreático de <i>P. laevicauda</i> (A) e <i>P. argus</i> (B). L - Lúmen, B - célula b, R - célula R, F- célula F.....	47
Figura 15 –	Fotomicrografia do músculo cardíaco. Fibras do músculo do coração (A). Seta preta -Miofibrilas (B). Seta preta - Granulócito (C). Hemolinfa coagulada (D)	50
Figura 16 –	Fotomicrografia da glândula antenal evidenciando os labirintos de <i>P. laevicauda</i>	51
Figura 17 –	Fotomicrografia da glândula antenal de <i>P. laevicauda</i> com seu coelomasac em evidência, canal excretor.....	52

Figura 18 –	Fotomicrografia do corte longitudinal do tecido muscular de <i>P. laevicauda</i> . N – Núcleo do fibroblasto.....	54
Figura 19 –	Fotomicrografia do corte longitudinal do músculo de <i>P. argus</i>	55
Figura 20 –	Fotomicrografia do corte transversal do tecido muscular. P – Perimísio, seta preta indica um feixe de fibras musculares.....	56
Figura 21 –	Fotomicrografia do coração de <i>P. laevicauda</i> , miocárdio. Miofibrilas (M) e hemócitos (seta)	58
Figura 22 –	Fotomicrografia do coração de <i>P. argus</i>	59
Figura 23 –	Fotomicrografia do músculo cardíaco de <i>P. laevicauda</i> . M - Miofibrilas. G - Granulócito. H - Hemolinfa coagulada.....	60
Figura 24 –	Fotomicrografia de infiltração hemocítica em volta de um fagócito observada no músculo cardíaco de <i>P. laevicauda</i>	61
Figura 25 –	Fotomicrografia da brânquia de <i>P. argus</i> . LP - Lamela principal. LS - Lamela secundária.....	63
Figura 26 –	Fotomicrografia da brânquia de <i>P. argus</i> . Setas pretas indicam canal branquial. Lam - lamelas.....	64
Figura 27 –	Fotomicrografia do corte transversal da lamela de <i>P. argus</i> (A) e <i>P. laevicauda</i> (B). Cut - cutícula. Epi - Epiderme. H - seio hemal...	65
Figura 28 –	Fotomicrografia do intestino, podendo ser observado o bolo alimentar (BA), parede intestinal e alguns parasitas (seta preta) .	67
Figura 29 –	Fotomicrografia do intestino, com maior resolução, evidenciando a infecção por parasita.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Amostras coletadas, localização, tamanho do cefalotórax e ciclo de vida.....	34
Tabela 2 – Condições de termociclagem utilizadas para os primers COI, 16S, WSSV, PaV1 e Microsporidium.....	42
Tabela 3 – Característica histológica presente em órgãos saudáveis ou com presença de patologia.....	70
Tabela 4 – Resultados obtidos para concentração proteica, profenoloxidase e atividade hemaglutinante.....	71

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2. HIPÓTESE	16
3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS	16
3.1 Geral	16
3.2 Específicos	16
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
4.1 <i>Panulirus</i> – aspectos gerais	17
4.2 <i>Panulirus</i> – aspectos anatômicos.....	18
4.2.1 <i>Morfologia externa</i>	18
4.2.2 <i>Morfologia interna</i>	21
4.3 Espécies estudadas	23
4.3.1 <i>Panulirus laevicauda</i>	23
4.3.2 <i>Panulirus argus</i>	24
4.4 Histologia de lagosta	25
4.5 Imunidade de lagostas.....	26
4.6 Patologia em lagostas.....	27
4.6.1 PaV1.....	29
4.6.2 <i>Síndrome da Mancha Branca (WSS)</i>	31
4.6.3 <i>Microsporidium</i>	32
5 METODOLOGIA	33
5.1 Amostragem das lagostas	33
5.2 Coleta de hemolinfa	35
5.3 Dissecção.....	36
5.4 Análise histológica.....	39
5.5 Hemaglutinação.....	40
5.6 Concentração proteica de lagostas.....	40
5.7 Determinação da fenoloxidase (PO) e da profenoloxidase (proPO)	41
5.8 Extração de DNA	41
5.9 Reação em cadeia da polimerase	42
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
6.1 Histologia	43

6.1.1 Hepatopâncreas	43
6.1.3 Músculo.....	54
6.1.4 Coração.....	57
6.1.5 Brânquias.....	62
6.1.6 Intestino	66
6.2 Imunologia	70
6.3 Molecular.....	73
7. CONCLUSÃO	75
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
REFERÊNCIAS.....	76
Anexo	83

1 INTRODUÇÃO

A pesca de lagosta no Brasil ocorre do estado do Amapá até o Espírito Santo, compreendendo uma área de 6.573 km de linha de costa (FONTELES-FILHO; GUIMARÃES, 2000). *Panulirus argus* (lagosta-vermelha) e *Panulirus laevicauda* (lagosta-verde) são as espécies com maior expressão no comércio nacional e internacional de lagostas do Brasil (ALENCAR *et al.*, 2020). Recentemente, foi sugerido que as lagostas previamente identificadas como *P. argus* na América do Sul pertencem na realidade a uma outra espécie, *Panulirus meripurpuratus* (GIRALDES & SMYTH, 2016). Podendo impactar em todo o conhecimento sobre sua biologia e ações tomadas para preservação dos estoques pesqueiros, como o período de defeso e tamanho mínimo de captura (ALMEIDA *et al.*, 2021).

Estudos apontaram crescimento de 5,6% por ano até 2022 do mercado de lagostas no mundo (FAO, 2018). No entanto, no ano de 2019 o Brasil exportou 2,5 mil toneladas deste recurso pesqueiro (BRASIL, 2020), representando um decréscimo de 65% quando comparado ao ano de 2017 (FAO, 2019). O declínio na produção de lagosta é observado em todo o mundo, logo é possível observar um déficit de 13,6% das exportações mundiais (FAO, 2020). Este recurso representou cerca de 30% do pescado total exportado pelo Brasil, movimentando aproximadamente US\$81 milhões no ano de 2019 (BRASIL, 2020). O Ceará com aproximadamente 67% das transações de lagostas exportadas tem sido o principal exportador deste recurso pesqueiro no país (BRASIL, 2020).

Apesar da expressiva importância deste recurso, os trabalhos que discorrem sobre populações de lagostas espinhosas brasileiras costumam se concentrar em parâmetros ligados à captura e ciclo de vida (DUARTE *et al.*, 2011). Porém, outros fatores relevantes da biologia das lagostas, como aspectos imunológicos e as enfermidades a que estão expostas e qual o seu impacto sobre a produção, têm sido raramente estudados. A identificação de organismos enfermos é reconhecida como um importante biomarcador ambiental, seja estes localizados em ambientes aquáticos ou terrestres (NEWTON & SMOLOWITZ, 2018). Diversas enfermidades de etiologia viral já foram identificadas em crustáceos, incluindo caranguejos e lagostas, entretanto as mais estudadas são aquelas que afetam o camarão marinho, principalmente os *peneídeos* devido sua importância para a carcinicultura sendo ela marinha ou continental (FLEGEL, 2012).

Aspectos imunológicos de lagostas foram estudados para poucas espécies, dificultando o entendimento da atuação de algumas enfermidades em seu sistema imune. Com o crescimento das mudanças ambientais e fatores antropogênicos espera-se que o número de doenças que acometem organismos marinhos venha a aumentar. Consequentemente, doenças infecciosas podem vir a impactar diretamente na ecologia populacional e no manejo da pesca destes recursos (CAWTHORN, 2011).

Lagostas podem ser acometidas por enfermidades de origem bacteriana, viral, fúngica e aquelas causadas por protozoários (SHIELDS, 2011). As enfermidades transmitidas por vírus que infectam lagostas espinhosas, até então relatadas, são aquela causada por *Panulirus argus* vírus (PaV1) encontrada na lagosta *P. argus* e a Síndrome da Mancha Branca (WSSV). O PaV1 demonstrou ser letal para juvenis de lagosta em sistemas de aquicultura experimental, sendo detectado em ambiente natural nas populações da América do Norte e Caribe (SHIELDS, 2011). Por outro lado, o WSSV, de alta relevância para a carcinicultura, foi identificado em lagostas de diferentes espécies do gênero *Panulirus*, porém apenas em ambiente de cultivo e induzidas de modo experimental (SHIELDS, 2011).

Outra patologia encontrada em lagostas espinhosas que costuma impactar sua viabilidade econômica por inviabilizar sua comercialização é a infecção por *Microsporidium*. Estes são parasitas intracelulares que ao infectar o hospedeiro preferem se alojar na musculatura esquelética e cardíaca, substituindo os sarcoplasmas das fibras musculares por massas com diferentes estágios de desenvolvimento (STENTIFORD & DUNN, 2014). Lagostas infectadas com *Microsporidium* apresentam letargia e musculatura esbranquiçada, com aspecto de algodão (SMALL *et al.*, 2019). Organismos com estas características, normalmente, são rejeitados na indústria e comércios locais causando grandes prejuízos para os pescadores.

No Brasil, não há informações sobre patologias que possam acometer as lagostas, o que dificulta a identificação prévia de impactos nesse setor. Esse fato pode possivelmente acarretar a diminuição dos estoques pesqueiros, tendo em vista, que sua diminuição normalmente está associada à sobreexploração (PHILLIPS, 2006). No entanto, não há informações sobre a saúde deste importante recurso pesqueiro em seu ambiente natural.

Estudos patológicos podem ser realizados por diferentes metodologias que auxiliem na identificação da enfermidade que afeta os organismos, como exame

clínico, ferramentas moleculares, microscopia eletrônica e histologia (ROSS *et al.*, 2019). No entanto, com exceção de ferramentas moleculares, as demais metodologias necessitam de referências dos animais saudáveis, pois utilizam comparação de parâmetros ou características dos tecidos para identificar possíveis anomalias.

2. HIPÓTESE

Lagostas *P. argus* e *P. laevicauda* no litoral do Ceará apresentam aspectos imunológicos e histológicos similares entre si e às demais espécies do gênero *Panulirus* e podem ser susceptíveis aos patógenos encontrados no Caribe.

3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS

3.1 Geral

Avaliar aspectos imunológicos, histológicos e sanitários de lagostas da espécie *P. argus* e *P. laevicauda* com a finalidade de descrever as características de organismos saudáveis e realizar varredura para patógenos que ocorrem no gênero.

3.2 Específicos

- Descrever e comparar aspectos imunológicos de lagostas da espécie *Panulirus argus* e *Panulirus laevicauda* saudáveis.
- Verificar se há diferença histológica entre lagostas da espécie *Panulirus argus* e *Panulirus laevicauda*.
- Detectar a possível presença de agentes patológicos nas lagostas coletadas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 *Panulirus* – aspectos gerais

A lagosta é o principal recurso pesqueiro do Brasil, apresentando alto valor comercial com negociações no mercado interno e, principalmente, externo. Pode ser comercializada em cauda congelada, inteira congelada, fresca ou viva. A cauda congelada apresenta maior volume de exportações, porém, a lagosta inteira estando congelada, fresca ou viva apresenta maior valor agregado, sendo muito bem quista pelo mercado externo, devido estes produtos atenderem exigências internacionais e possuírem maior qualidade (ALENCAR *et al.*, 2020).

A pesca deste recurso não ocorre durante todo o ano, diminuindo sua comercialização em alguns períodos. De acordo com a PORTARIA SAP/MAPA Nº 221, DE 8 DE JUNHO DE 2021, durante o intervalo de 1º de novembro até 30 de abril do ano subsequente fica suspensa a pesca da lagosta. Tal medida visa preservar os estoques de lagostas, através do período de defeso, da restrição do tamanho mínimo de captura (*P. argus* superior a 13 cm de cauda e *P. laevicauda* acima de 11 cm de cauda), das armadilhas que podem ser utilizadas na pesca, entre outras medidas que buscam garantir a reprodução e renovação dos estoques pesqueiros (MAPA, 2021; SILVA; FONTELES-FILHO, 2011).

A reprodução deste recurso ocorre em zonas mais profundas, no primeiro e segundo semestre, levando estes indivíduos a realizarem migrações neste período (FONTELES-FILHO & IVO, 1980). Lagostas apresentam dimorfismo sexual que auxiliam na fecundação dos óvulos. As fêmeas apresentam orifício genital na base do terceiro par de pereiópodes, esterno curto, pleópodos duplos, com várias cerdas e o dátilo apresenta uma quela no quinto par de patas. Enquanto que os machos apresentam orifício genital na base do quinto par de pereiópodes e pleópodos simples (IZQUIERDO *et al.*, 2011).

O acasalamento ocorre com o emparelhamento do macho com a fêmea, em posição frontal, sendo realizada a deposição da massa espermatofórica sobre o esterno da fêmea (SILVA; FONTELES-FILHO, 2011). As fêmeas ao ovularem irão liberar os óvulos. Com o auxílio da quela presente no quinto par de pereiópodes a fêmea irá raspar a massa espermatofórica, soltando os espermatozoides que fecundarão os óvulos liberados (IZQUIERDO *et al.*, 2011). Após a fecundação, os ovos

ficarão aderidos na parte ventral da fêmea e oxigenados com o auxílio dos pleópodos duplos até sua eclosão (SILVA; FONTENELES-FILHO, 2011).

Após a eclosão inicia-se a fase larval, a larva denominada de filossoma, apresenta 11 estágios larvais, através das correntes marítimas é transportada até a zona costeira (CRUZ *et al.*, 2021). Na fase seguinte, aproximadamente 7 meses posterior sua eclosão ocorre a metamorfose para a pós larva chamada de *puerulus* que após realizar o assentamento passa a habitar o ambiente bentônico com pequenas profundidades, áreas de até 10 metros (IVO *et al.*, 2012; CRUZ *et al.*, 2021). O *puerulus* será considerado um juvenil após 10 a 13 meses de sua eclosão, o qual irá migrar para ambientes com maior profundidade, 20-30 metros, devido apresentarem maior disponibilidade de alimento. Estes, pré-recrutas, estarão prontos para reprodução com aproximadamente 27 a 33 meses, migrando para áreas com profundidades superiores a 50 metros (DIAS NETO, 2008; IVO *et al.*, 2012; CRUZ *et al.*, 2021). Logo, as lagostas são consideradas espécies de ciclo longo, podendo viver entre 17-18 anos, influenciando diretamente a sobrepesca do crescimento, visto que o período crítico se localiza na fase jovem (SILVA; FONTENELES-FILHO, 2011).

As lagostas são forrageadoras generalistas (PHILLIPS, 2006), ou seja, comem uma grande variedade de alimentos, sua ingestão ocorre por sucção dos pedaços que serão retirados unitariamente (FONTENELES-FILHO, 2011). Sua composição alimentar é principalmente de moluscos gastrópodes e crustáceos, podendo ser encontrado esporadicamente equinodermos, algas e corais (SILVA; FONTENELES-FILHO, 2011).

Na fase juvenil e adulta são consideradas organismos bentônicos devido habitarem no substrato, tendo preferência por ambientes rasos, com profundidades inferiores a 100m, com presença de substrato calcário, bancos de algas calcárias ou recifes de corais (KANCIRUK, 1980; FONTELES FILHO, 1992).

4.2 *Panulirus* – aspectos anatômicos

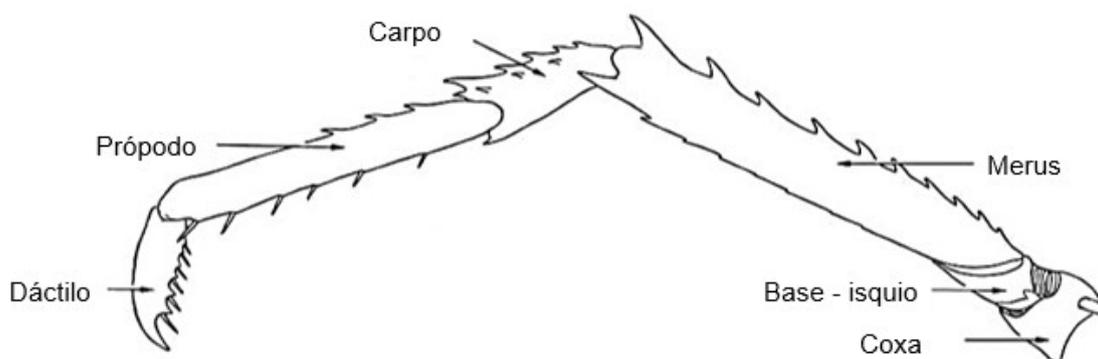
4.2.1 *Morfologia externa*

A lagosta espinhosa, recebeu esta denominação devido apresentar o corpo coberto por espinhos de diferentes comprimentos. Classificada como um crustáceo decápode, devido apresentar 5 pares de apêndices que formam os pereiópodes (SCHRAM, 2016), seu corpo é dividido em cefalotórax e abdômen (Figura 2)

(IZQUIERDO *et al.*, 2011). No cefalotórax podemos identificar 1 par de antenas, 1 par de antênulas, o rostro ou grandes acúleos, caracterizados como dois espinhos protuberantes próximos ao pedúnculo ocular, 5 pares de pereiópodos e na parte ventral as peças bucais, maxílula e maxilípedes. No abdômen está localizado seis segmentos, cada um apresenta um par de pleópodos, finalizando com o leque caudal, composto pelo télson e os quatro urópodos (Figura 2) (IZQUIERDO *et al.*, 2011).

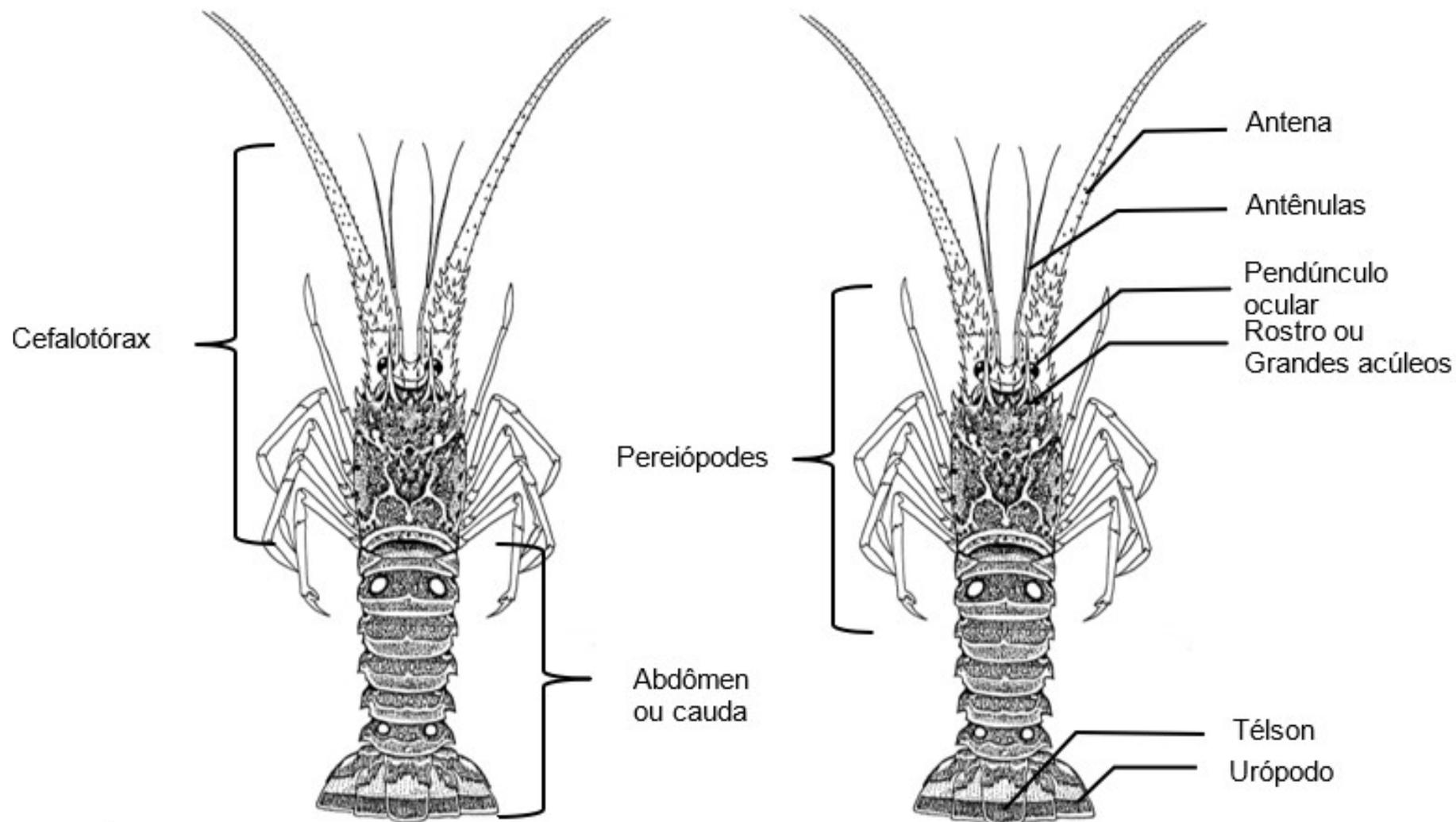
As patas apresentam denominações específicas para cada segmento, sendo dividida em: coxa, base- isquio, merus, carpus, propodo, dáctilo. A coxa é o segmento basal do pereiópode, sétimo segmento contando a partir da ponta da pata. Em seguida temos a base, sexto segmento e o isquio, quinto segmento. O merus é considerado o segmento médio, quarto segmento contando a partir de qualquer extremidade. O carpus, propodo e dáctilo, são o terceiro, segundo e primeiro segmento, respectivamente, contando a partir da ponta da pata (HOLTHUIS, 1991).

Figura 1 - Segmentos do pereiópode.



Fonte - Adaptado de Poore *et al.*, 2011 e Baba *et al.* (2009).

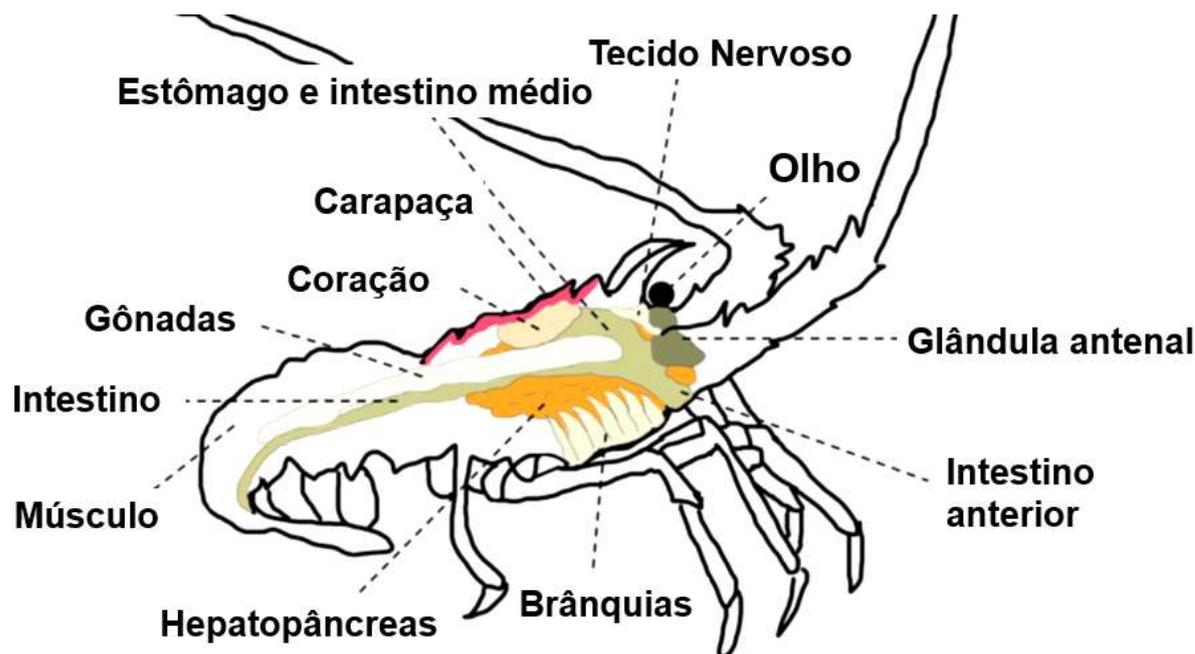
Figura 2 - Anatomia da lagosta



4.2.2 Morfologia interna

A lagosta é composta por órgãos que formam diferentes sistemas como: digestório, circulatório, muscular, nervoso, respiratório, excretor e reprodutor.

Figura 3 - Órgãos da lagosta.



Fonte - Adaptado de Ross *et al.* (2019).

O organismo inicia sua alimentação com a ingestão do alimento através dos maxílpedes e maxila que em seguida será transportado para o esôfago até o estômago cardíaco, ao qual será triturado pelo moinho gástrico, em seguida a digestão enzimática acontecerá no estômago pilórico com o auxílio de enzimas liberadas pelo hepatopâncreas. Esse processo acontece no intestino anterior (esôfago, estômago cardíaco e pilórico) e no intestino médio, formado pelo hepatopâncreas e início do intestino. Esta região diferencia do intestino posterior devido à ausência de uma epicutícula que é responsável pela absorção de água e nutrientes restantes (ROSS *et al.*, 2019).

Os nutrientes absorvidos da alimentação são transportados pela hemolinfa por meio do sistema circulatório. O sistema circulatório das lagostas é aberto, ou seja, a hemolinfa circula fora dos vasos. Logo, o coração bombeia hemolinfa através de um sistema de artérias que se dividem em capilares menores. Estas transportam a

hemolinfa para os seios hemal que são responsáveis por irrigar os órgãos e, conseqüentemente, levar oxigênio e demais nutrientes necessários para seu funcionamento (FACTOR, 1990). Antes de retornar para o pericárdio a hemolinfa passa pelas brânquias, nas quais serão oxigenadas e transportarão oxigênio para o coração retornando o ciclo (WILKENS *et al.*, 1997).

Outro sistema que auxilia na circulação da hemolinfa é o muscular, responsável pelo bombeamento, através do músculo cardíaco estriado presente no coração (ROSS *et al.*, 2019; WILKENS *et al.*, 1997; WADA *et al.*, 1994), uma das artérias da lagosta apresenta músculo estriado, no entanto ainda é desconhecida sua função (WILKENS *et al.*, 1997). Além do movimento da hemolinfa o sistema muscular é responsável pela locomoção do indivíduo em si, por meio do músculo esquelético em consórcio com o sistema nervoso e seus estímulos (ROSS *et al.*, 2019).

Os estímulos nervosos liberados pelas redes neurais, circuitos complexos que constituem o sistema nervoso, são responsáveis pela natação, respiração e locomoção (MARDER & BUCHER, 2007). Portanto, a rede de neurônios, os nervos motores eferentes e os músculos inervados formam o sistema gerador de padrões centrais, que ao serem ativados geram comportamentos rítmicos e padrões de atividade elétrica, estímulos nervosos (PETROPOULUS, 2023). Estudos do coração da lagosta, estomogástrico e quimiossensoriais possibilitaram maior compreensão da atuação do sistema gerador de padrões centrais, neuromoduladores e do olfato (MARDER & BUCHER, 2007).

O sistema excretor é formado pela glândula antenal, brânquias e intestino, responsáveis pela regulação osmótica e iônica (KHODABANDEH *et al.*, 2005). A glândula antenal auxilia na regulação dos íons de Mg^{2+} , SO_4^{2-} e Cl^- na hemolinfa (MALLEY, 1977), na excreção de compostos orgânicos e reabsorção de fluidos, açúcares e aminoácidos (MANTEL & FARMER, 1983). Brânquias e intestino por terem contato com o meio interno e externo também auxiliam no processo de osmorregulação.

O sistema reprodutor diverge entre machos e fêmeas. Nos machos são observados testículos, caracterizados como longos túbulos em formato de H, com coloração variando de translúcida a amarelada de acordo com seu grau de maturação esbranquiçada (LIMA & GESTEIRA, 2008). As fêmeas apresentam ovários localizados dorsalmente no cefalotórax próximo ao hepatopâncreas, seu tamanho e coloração variam com seu grau de maturação. Quando imaturos são translúcidos a

esbranquiçados, enquanto gônadas maduras apresentam coloração laranja-avermelhadas (YUSNAINI *et al.*, 2020).

4.3 Espécies estudadas

4.3.1 *Panulirus laevicauda*

A lagosta espinhosa *Panulirus laevicauda*, conhecida comumente como lagosta verde, tem sua distribuição biogeográfica desde a Ilha das Bermudas até o nordeste do Brasil, sendo encontrada com maior abundância no Brasil, possibilitando maior exploração econômica e estudos acerca de sua biologia nesta região (GIRALDES & SMYTH, 2016).

Presente em ambientes rasos, com profundidade até 70m e fundo composto por substratos de cascalho, rochoso ou recifes de coral. Na Ilha de Fernando de Noronha pode ser observado população desta espécie e um exemplar foi relatado na ilha do Atol das Rocas (RIBEIRO, 2017).

Segundo Giraldes e Smyth (2016), a identificação de *P. laevicauda* pode ser realizada através de suas características morfológicas e de coloração. As características morfológicas utilizadas na chave de identificação seria a presença de 2 pares de espinhos fortes na placa antenular, ausência de sulco transversal nos somitos 2-5 e presença de manchas apenas na margem lateral dos somitos abdominais. A identificação baseada na coloração irá observar a carapaça com dorso avermelhado, chifres supraorbitais amarelado com manchas pretas/ marrom. Pereiópodes com listras interrompidas, própodo e dáctilo com coloração verde intenso. Telson e urópodes uniformemente esverdeados e abdômen com manchas brancas concentradas na região lateral.

De acordo com Latreille (1817) as lagostas da espécie *P. laevicauda* são classificadas taxonomicamente como:

Subfilo: Crustacea

Classe: Malacostraca

Ordem: Decapoda

Subordem: Pleocyemata

Infraordem: Achelata

Família: Palinuridae

Gênero: *Panulirus*

Espécie: *Panulirus laevicauda*

4.3.2 *Panulirus argus*

Panulirus argus, conhecida comumente como lagosta vermelha, tem sua distribuição no lado oeste do Atlântico, sendo relatada desde a Carolina do Norte (Estados Unidos) até o Rio de Janeiro (Brasil) (HOLTHUIS, 1991). Apresentando alguns relatos no Arquipélago de Cabo Verde e na Costa do Marfim (África) (FREITAS & CASTRO, 2005).

Recentemente, foi identificado que *P. argus* seriam duas espécies crípticas, sendo denominada *P. argus* para a espécie encontrada no Caribe e a espécie presente no Brasil como *P. meripurpuratus* (GIRALDES & SMYTH, 2016). As duas espécies da lagosta vermelha podem ser identificadas através da morfologia ou da coloração. A morfologia determina a presença de 2 pares de espinhos na placa antenular, sulco transversal e manchas na superfície superior do somito abdominal 2-5. Terceiro maxilípede com exópodo, longos cornos supraorbitais que ultrapassam os espinhos anteriores na placa antenular. Mancha ocelada nos dois lados dos somitos, sendo mais proeminente nos somitos 2 e 6. Estas características são identificadas nas espécies *P. argus* e *P. meripurpuratus*, sendo diferenciadas através dos sulcos presentes na carapaça (profundo na espécie *P. argus* e raso na *P. meripurpuratus*) e presença de várias manchas pequenas nos somitos da espécie *P. meripurpuratus* (Giraldes & Smyth, 2016). A diferenciação das espécies torna-se mais fácil por meio da coloração, ao qual *P. argus* apresenta carapaça vermelho escuro, pereiópodes listrados e uma linha branca no final de cada somito, enquanto *P. meripurpuratus* possui carapaça vermelho pálido, ausência de listras nos pereiópodes, com coloração púrpura nos meri. No entanto, esta divisão das espécies não tem sido empregada por todos os pesquisadores (ALMEIDA *et al.*, 2021).

Estas divergências iniciaram após estudos genéticos do DNA mitocondrial que compararam os estoques populacionais do Brasil e Estados Unidos terem apresentado divergência significativa nos genes do COI e 16S (SARVER *et al.*, 1998; DINIZ *et al.*, 2005; TOURINHO, 2009), sendo sugerido que a espécie encontrada no Brasil fosse denominada de *P. argus westonii* e a espécie do Estados Unidos *P. argus argus* (SARVER *et al.*, 1998). Porém, novos estudos que abordaram a genética populacional dos estoques da Flórida apresentaram haplótipos similares da população do Brasil (SARVER *et al.*, 2000). No entanto, Tourinho (2013) além de considerar as populações do Brasil e do Caribe distintas dividiu em dois estoques a população de

lagostas vermelha no Brasil, sendo um estoque presente do Pará à Bahia e um outro estoque presente do Sul da Bahia à São Paulo. Permanecendo a inconsistência entre a taxonomia destes estoques devido à falta de estudos que abranjam morfologia e genética concomitantemente.

4.4 Histologia de lagosta

A histologia busca a observação da microanatomia de células, tecidos e órgãos correlacionando estas estruturas com suas funções no organismo (ROSS & PAWLINA, 2006). Lagostas são crustáceos decápodes e suas estruturas histológicas podem ser encontradas descritas em alguns estudos como Ross *et al.* (2019), Shields & Boyd (2014) e Factor (1995), nestes estudos podemos observar um atlas histológico de algumas espécies de lagostas e possíveis patologias que as acometem. Os estudos histológicos de lagostas concentram-se no estudo do tecido muscular, trato digestivo, na cutícula e sistema reprodutor.

O tecido muscular esquelético é formado por fibras musculares, denominadas miofibrilas. As miofibrilas são caracterizadas por seus feixes longos, cilíndricos e multinucleados (ROSS *et al.*, 2019). Estas são envoltas pelo endomísio, camada de tecido conjuntivo que envolve as fibras musculares. Um conjunto de fibras e seus endomísios organizados em grupos de feixes são denominados de perimísio. Um conjunto de perimísios são envolvidos por tecido conjuntivo que formam septos, denominados epimísio, este envolve todo o músculo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1985). O tecido conjuntivo contribui com a distribuição da força de contração dos músculos, além de conter seios hemais que irão irrigar e oxigenar o tecido muscular com hemolinfa.

O músculo cardíaco, também denominado de miocárdio, é encontrado no coração das lagostas. Assim como no músculo esquelético, o músculo cardíaco, apresenta fibras estriadas, porém, mais curtas, sendo circundado por tecido conjuntivo, denominado pericárdio (ROSS *et al.*, 2019). Células e tecidos são irrigados diretamente, sem a presença de vasos verdadeiros, devido seu sistema circulatório ser aberto.

No sistema digestivo algumas das principais estruturas histológicas que podem ser observadas são: dentes laterais no estômago gástrico, túbulos

hepatopancreáticos no hepatopâncreas e células epiteliais colunares no formato de escova, no intestino.

A carapaça das lagostas é formada por epicutícula, exocutícula e endocutícula (ROSS *et al.*, 2019). Segundo Aiken (1930), sua formação é dividida em estágios que variam do nível A ao E, possuindo alguns subníveis (A1, A2, B, C1, C2, C3, C4, D0, D1, D2, D3, E), esta irá variar de acordo com o nível de muda que o organismo se encontra. A elaboração de lâminas histológicas da região cuticular necessita de um processamento específico de descalcificação, podendo ser utilizado ácido fórmico 5% (SMOLOWITZ *et al.*, 2005).

O sistema reprodutor é constituído pelos ovários nas fêmeas e pelo testículo nos machos. O grau de maturação destes organismos pode ser classificado em imaturo, em desenvolvimento, pré-maturação, maduro e pós-desova. Na análise histológica a observação do diâmetro celular e características do núcleo das células germinativas irá determinar o estágio de desenvolvimento gonadal, podendo ser classificado em ovogônias, ovócitos I, ovócitos II e ovócitos maduros (MOTA & TOMÉ, 1966; BARRETO *et al.*, 2008).

Essas são algumas informações básicas sobre a histologia de lagostas. Em seguida serão detalhados alguns de seus tecidos e estruturas microscópicas, trazendo um estudo detalhado de sua anatomia, contribuindo para uma melhor compreensão de sua fisiologia.

4.5 Imunidade de lagostas

A imunologia é o estudo do sistema imunológico, que é responsável pela proteção dos organismos contra agentes patogênicos, como vírus, bactérias e protozoários. Nas lagostas ele é composto por diversas proteínas e moléculas que desempenham papéis importantes na defesa e proteção do organismo. O sistema imunológico das lagostas é disposto apenas de sistema imune inato, ou seja, apresenta um mecanismo de defesa que atua contra microrganismos e outros agentes invasores (LEE & SODERHALL, 2002).

Os componentes do sistema imunológico dos crustáceos estão localizados na hemolinfa. Esta é constituída por células, denominadas de hemócitos, e pela fração líquida, plasma (MORALES *et al.*, 2008). Seu sistema de defesa pode realizar

encapsulação, fagocitose, melanização, reações citotóxicas e adesão celular (LEE & SODERHALL, 2002). No entanto, o sistema de melanização é considerado um dos mais importantes para a defesa desses organismos, sendo controlado através da presença da enzima inativa profenoloxidase (CERENIUS & SODERHALL, 2004). Na maioria dos crustáceos o sistema de profenoloxidase encontra-se dentro dos hemócitos, porém em lagostas também pode ser encontrado no plasma (HERNANDEZ-LOPEZ *et al.*, 2003; PERDOMO-MORALES *et al.*, 2008).

A profenoloxidase é uma enzima inativa que ao ser ativada por meio de cascatas e pela sua clivagem proteolítica através de uma serina proteinase, é convertida em fenoloxidase e iniciam-se os processos de defesa. Logo, a mensuração desta enzima fornece informações importantes sobre o conhecimento do sistema imunológico e permite uma relação com o contexto ecológico (CERENIUS & SODERHALL, 2004), auxiliando na identificação de possíveis patologias ou situação de estresse para o organismo.

Algumas metodologias são utilizadas para mensurar o estado imunológico dos indivíduos e avaliar a presença de infecções. No estudo de Herrera-Salvatierra *et al.* (2019) para avaliar o estado imunológico de lagostas infectadas naturalmente com o vírus do PaV1 foi utilizado contagem de hemócitos, determinação da fenoloxidase e ensaios de hemaglutinação.

No entanto, poucos estudos abordam parâmetros imunológicos de lagostas e quando são realizados não utilizam uma metodologia padrão, usando indivíduos de espécies e comprimentos distintos e diferentes métodos de coletas, dificultando a interpretação dos dados e a comparação dos resultados obtidos (PERDOMO-MORALES *et al.*, 2007; HERRERA-SALVATIERRA *et al.*, 2019; DAY *et al.*, 2019)

Vale salientar que estudos que avaliem o sistema imunológico das lagostas permitem uma melhor compreensão do estado de saúde destes animais e desta forma contribuem para a obtenção de parâmetros importantes sobre a saúde desses organismos e assim traçar um perfil sobre o estado sanitário desses animais.

4.6 Patologia em lagostas

Lagostas espinhosas podem ser afetadas por diferentes patógenos como bactérias, vírus e parasitas os quais podem causar enfermidades e

consequentemente mortalidades. Estudos sobre patologia nesses crustáceos são escassos, destacando-se apenas algumas pesquisas as quais têm sido realizadas devido principalmente a sobrexploração e valoração econômica desse recurso frente a indústria pesqueira.

A grande maioria dos vírus que infectam crustáceos são conhecidos devido ao seu impacto na produção aquícola, notadamente, os crustáceos mais produzidos em cativeiro são os que apresentam a maior quantidade de vírus identificados. A ausência do conhecimento completo da atuação destes vírus, como seu impacto na imunologia do hospedeiro e seu sequenciamento completo dificultam sua identificação, principalmente em organismos selvagens (BATEMAN & STENTIFORD, 2017). Normalmente, estudos que abordem infecções em organismos aquáticos selvagens são realizados de forma pontual, através de uma infecção já conhecida na aquicultura, ou precisam ser acompanhados de altas mortalidades na população natural (KIBENGEN, 2016). No entanto, não é necessário que grandes perdas econômicas aconteçam para que possamos conhecer os patógenos de lagostas. Estudos com sequenciamento de nova geração permitem a descoberta destes, mesmo que nunca tenham sido relatados como agente infeccioso de uma determinada espécie, facilitando sua detecção e rastreabilidade (NKILI-MEYONG *et al.*, 2017).

Alguns estudos mostraram que lagostas espinhosas do gênero *Panulirus* apresentam um vírus que as infectam em ambiente natural (PaV1) (SHIELDS & BEHRINGER, 2004), parasitas como vermes nemertinos (SIMPSON *et al.*, 2017), infecções bacterianas (KOESHARYANI *et al.*, 2017) e doença da concha ou da casca (PORTER *et al.*, 2001).

Doenças emergentes podem vir a atingir as lagostas espinhosas como infecções pela Síndrome da Mancha Branca (WSSV) e microsporídios. Apesar de não haver relatos de infecção por WSSV em lagostas espinhosas no habitat natural estudos de infecção em laboratório mostraram que esta é propensa a infecção e com alta mortalidade (88%) (ROSS *et al.*, 2019). Infecção por microsporídios apresenta baixa prevalência no habitat natural, inferior a 1%, mas é necessário monitoramento constante para observar se as mudanças climáticas podem contribuir para o aumento desta (ATHERLEY *et al.*, 2020).

4.6.1 PaV1

O *Panulirus Argus* Vírus (PaV1) foi o primeiro vírus notificado que infecta lagostas do gênero *Panulirus*. Estudos acerca desta virose constataram que este contágio apenas lagostas da espécie *Panulirus argus*, sendo considerado um vírus espécie-específico (BUTLER *et al.*, 2008).

Sua primeira notificação foi no ano 2000 na Flórida (SHIELDS & BEHRINGER, 2004) e em seguida no México (HUCHIN-MIAN *et al.*, 2008). A principal característica que lagostas infectadas apresentam quando estão infectadas por PaV1 é a presença de hemolinfa leitosa visível através da membrana translúcida presente na transição da cabeça e do abdômen (SHIELDS & BEHRINGER, 2004).

Este vírus tem o formato icosaédrico e dentro do hospedeiro infecta principalmente tecidos de origem mesodérmica como células do tecido conjuntivo e hemócitos, nesse tendo preferência por hialinócitos e semigranulócitos (HERRERA-SALVATIERRA *et al.*, 2019). Seu genoma completo apresenta 70.886 pb (Genbank access. MN604017) sendo considerado um vírus da provável família Mininucleoviridae (SUBRAMANIAM *et al.*, 2020).

Sua ocorrência vai desde a Flórida, passando por todo o mar do Caribe até Porto Rico (MOSS *et al.*, 2013) não havendo relatos de sua presença nas populações da América do Sul (DAVIES *et al.*, 2020). Sua prevalência varia de acordo com a região, tamanho da área e o comprimento médio da população estudada. Organismos juvenis (até 45 mm de comprimento da carapaça) apresentam maior número de exemplares infectados, podendo variar de 5 a 60% na região da Flórida e 13,4% a 22,5% no México (BEHRINGER *et al.*, 2012; DAVIES *et al.*, 2020). Segundo Davies *et al.* (2020), populações que vivem em ambientes recifais menores com abundância de vegetação tendem a apresentar maior prevalência em suas populações. A vegetação ajuda na proteção do vírus contra raios UV, aumentando sua sobrevivência fora do hospedeiro (HUCHIN-MIAN *et al.*, 2013). Sua dispersão pode ocorrer através da coluna de água, contato com organismos enfermos ou pela infecção de organismos hospedeiros, descartando-se infecção vertical devida ausência de filossomas positivos (KOUGH *et al.*, 2015).

Uma característica peculiar das lagostas sadias é o isolamento dos organismos que se apresentam enfermos, mesmo que sua natureza seja de agregação (BRIONES-FOURZÁN *et al.*, 2012). Porém, ambientes que apresentam

casitas, abrigos artificiais, que aumentam significativamente a densidade de lagostas e sua sociabilidade (BRIONES-FOURZÁN & LOZANO-ÁLVAREZ, 2001) não apresentaram maior quantidade de organismos infectados (BRIONES-FOURZÁN *et al.*, 2012, HUCHIN-MIAN *et al.*, 2013), mostrando que esta característica de isolar organismos enfermos venha a ser um importante mecanismo de defesa imunológica.

Os principais métodos de detecção utilizados são PCR em tempo real (CLARK *et al.*, 2018), PCR convencional (MONTGOMERY-FULLERTON *et al.*, 2007) e histologia (JIMENEZ *et al.*, 2012). A utilização de PCR seja esta convencional ou em tempo real facilitam a detecção de organismos assintomáticos, visto que juvenis infectados nas 6 primeiras semanas tendem a não apresentar sintomatologia (BEHRINGER *et al.*, 2006).

Lâminas histológicas com infecção de PaV1 apresentam aumento no espaço entre os túbulos hepatopancreáticos, distorção do seio hemal, células com alto grau de infecção tendo eosinofilia, Cowdry A, núcleos picnóticos e ausência de reserva de inclusão (SHIELDS & BERINGER, 2004). O grau de infecção pode ser classificado a partir da observação de lâminas histológicas do hepatopâncreas, infecção dos hemócitos e seio hemal. Os estudos de Jimenez *et al.* (2012) e Herrera Sallvatierra *et al.* (2014) classificaram 4 graus de infecção que podem ser denominados por grau zero que identifica indivíduo saudável ou sem infecção, grau 1 que equivale a levemente infectado, grau 2 que identifica indivíduos moderadamente infectados e grau 3 sendo os indivíduos fortemente infectados.

Organismos levemente a moderadamente infectados apresentavam fagócitos fixos infectados, presença de algumas células infectadas no hepatopâncreas (1-100/por seção), infiltração hemocítica e obstrução do seio hemal. Lâminas de animais altamente infectados apresentavam hipertrofia nuclear, cromatina condensada, túbulos do hepatopâncreas atrofiados, granulomas, células infectadas (acima de 100/por seção) e presença de células infectadas ao redor do tecido conjuntivo (JIMENEZ *et al.*, 2012; HERRERA SALVATIERRA *et al.*, 2019).

Os parâmetros imunológicos observados por Herrera-Salvatierra *et al.*, (2019) mostraram que lagostas levemente infectadas apresentam aumento da fenoloxidase, porém quando a infecção se torna alta a concentração desta tende a cair. A hemaglutinação em organismos saudáveis é maior quando comparada a organismos infectados com PaV1 (JIMENEZ *et al.*, 2012). Na contagem de hemócitos a proporção de hialinócitos e semigranulócitos diminuíram 40% e 20% quando

comparados a indivíduos saudáveis (HERRERA-SALVATIERRA *et al.*, 2019).

4.6.2 Síndrome da Mancha Branca (WSS)

A Síndrome da Mancha Branca (WSS) é uma enfermidade de etiologia viral de maior impacto econômico na aquicultura mundial de camarões peneídeos (FLEGEL *et al.*, 2008). Foi identificada em 1992 na Ásia (CHOU *et al.*, 1995) e ainda não há tratamentos que venham a curar os organismos após a instalação do vírus (ISLAM *et al.*, 2023). No entanto, o setor aquícola utiliza métodos que mitigam a atuação do vírus no ambiente de cultivo como utilização de viveiros estufados, controle de estresse, aplicação de imunoestimulantes e utilização de larvas livres do patógeno (FLEGEL, 2019)

O WSSV é um vírus de DNA fita dupla circular da família Nimaviridae com genoma de aproximadamente 300kbp, sendo um dos maiores vírus de DNA (VERBRUGEN *et al.*, 2016). Conhecido por ter vários crustáceos como hospedeiros, como camarões e caranguejos, foi realizado experimentos que induziam a infecção de lagostas por via oral (CHANG *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 1998; RAJENDRAN *et al.*, 1999; MUSTHAQ *et al.*, 2006) ou por injeção intramuscular (RAJENDRAN *et al.*, 1999; MUSTHAQ *et al.*, 2006; ROSS *et al.*, 2019), devido não haver relatos desta infecção ocorrer de forma natural no ambiente. Nestes estudos foram utilizadas lagostas das espécies *Panulirus versicolor*, *P. penicillatus*, *P. ornatus*, *P. longipes*, *P. homarus*, *P. polyphagus* e *P. argus* e verificou-se que este vírus é capaz de infectar estes organismos (CHANG *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 1998; RAJENDRAN *et al.*, 1999; MUSTHAQ *et al.*, 2006; ROSS *et al.*, 2019).

Lagostas infectadas com WSSV apresentaram letargia, redução do consumo alimentar e carapaça com coloração escura na região dorsal (MUSTAQ *et al.*, 2006). Sua detecção pode ser realizada através de diagnóstico molecular por meio de PCR em tempo real e/ou convencional e através da observação de lâminas histológicas (ROSS *et al.*, 2019).

Lâminas histológicas do tecido branquial apresentaram maior infecção por WSSV e significativas alterações puderam ser observadas nas células, como degeneração, inclusões intranucleares, basofilia e hipertrofia acentuada em hemócitos localizados nas lamelas branquiais, estas características também podem

ser observadas em lâminas do intestino (WANG *et al.* 1998; CHANG *et al.* 1998; RANJENDRAN *et al.*, 1999; MUSTAQ *et al.*, 2006).

4.6.3 *Microsporidium*

Microsporídios são parasitas que podem infectar todos os táxons conhecidos, de protistas a vertebrados, sendo conhecidos 187 gêneros e 1500 espécies destes organismos (STENTIFORD & DUNN, 2014). Metade das espécies de microsporídios infectam animais aquáticos, podendo se instalar em diferentes órgãos. Os estudos que abordam a infecção deste gênero em organismos aquáticos são focados principalmente em espécies de interesse comercial, como camarões, caranguejos e lagostas, sejam estes encontrados em ambiente marinho ou dulcícola (STENTIFORD & DUNN, 2014). A vasta disseminação destes organismos pode se dar devido ao seu hiperparasitismo, ou seja, podem parasitar parasitas, como as gregarinas, e facilitar sua vetorização em filos superiores (STENTIFORD *et al.*, 2013).

A identificação desses parasitas pode ser realizada por técnicas moleculares, histológicas e microscopia eletrônica (SMALL *et al.*, 2019; KIRYU *et al.*, 2009). Sabe-se que há sequências de DNA para metade destes parasitas que infectam hospedeiros aquáticos (STENTIFORD *et al.*, 2013).

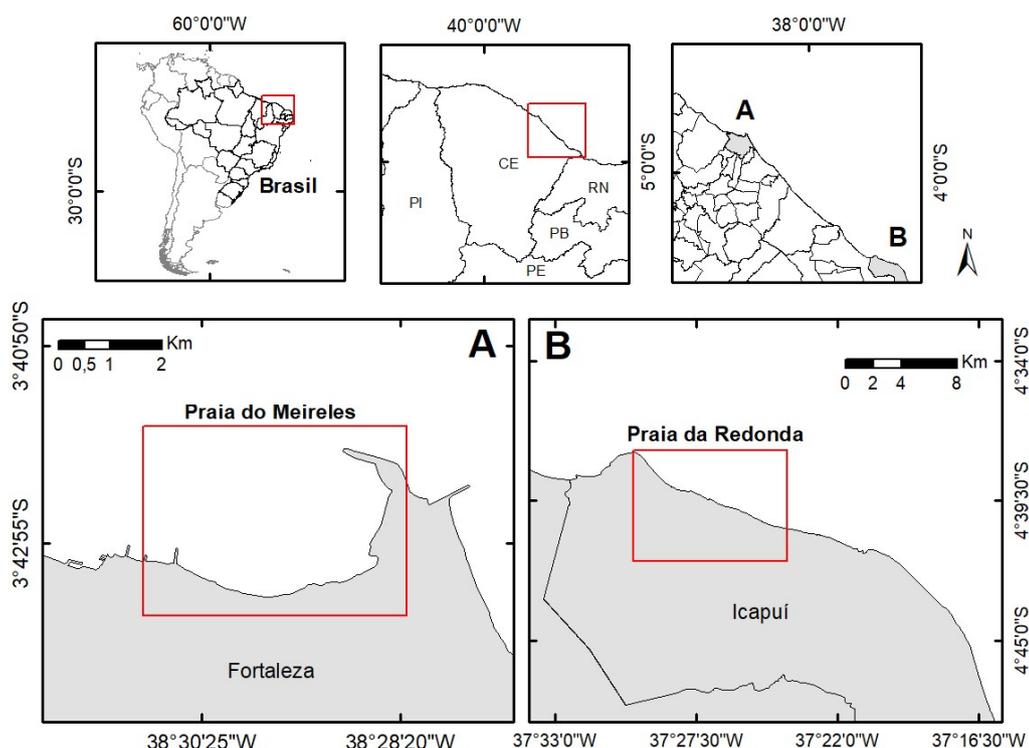
Microsporídios identificados como parasitas de lagostas tendem a infectar o músculo. Em organismos mais gravemente infectados pode ser observado esporos no hepatopâncreas, pedúnculo ocular, hemolinfa, gônada e glândula antenal (ATHERLEY *et al.*, 2020). Sua colonização na musculatura causa opacidade das miofibrilas esqueléticas devido a substituição do sarcoplasma da fibra muscular por massas de seu estágio inicial de vida (STENTIFORD & DUNN, 2014). Lagostas infectadas com este parasita apresentam musculatura com aspecto de algodão, como se estivessem cozidas. Até o momento, foi identificado indivíduos do gênero *Amenson* e *Myospora* como parasitas de lagostas espinhosa no Caribe e no oeste do Japão (STENTIFORD *et al.*, 2010; SMALL *et al.*, 2019; ITOH *et al.*, 2020). No Brasil foi relatado a co-infecção de *Macrobrachium amazonicum* por *Inodosporus sp.* e *Myospora sp.* (PASCHOAL *et al.*, 2021). No entanto, não há relatos para infecção de lagostas com microsporídeo no Brasil.

5 METODOLOGIA

5.1 Amostragem das lagostas

As amostragens foram feitas durante a temporada de pesca na praia da Redonda, Icapuí ($4^{\circ} 38'49.03''S$: $37^{\circ} 28'42.62''O$), litoral leste, e na praia do Meireles ($3^{\circ} 43'15.88''S$: $38^{\circ} 30'17.02''O$), Fortaleza, localizadas no estado do Ceará (Figura 4). A praia da Redonda e do Meireles são caracterizadas pela presença de um banco de algas calcárias e fundo rochoso, compondo o habitat preferencial de lagostas. Na Praia da Redonda foram amostradas um total de 20 lagostas no ano de 2019, na Praia do Meireles foram coletadas 4 lagostas em 2021. Na indústria de Fortaleza foram coletadas 478 patas de lagostas.

Figura 4 - Local de coleta. Coleta realizada na Praia da Redonda, Icapuí e na Praia do Meireles, Fortaleza, localizadas no estado do Ceará.



Fonte - Elaborado pelo autor, 2024.

As coletas realizadas nas Praias da Redonda e Meireles foram utilizadas para análise histológica e molecular, enquanto que as coletas realizadas na indústria de Fortaleza foram realizadas, exclusivamente, análise molecular.

A coleta realiza na indústria de Fortaleza as amostras foram identificadas individualmente por espécie sendo escolhidas 188 amostras de *Panulirus laevicauda* e 290 amostras de *Panulirus argus*. Estas foram constituídas de fragmentos de 0,5 a

1g de músculo das patas ou pereópodos, armazenadas em tubos eppendorf, em álcool a 95% (Merck®) para preservação do tecido para realização de testes moleculares.

As amostras coletadas nas praias da Redonda e do Meireles foram identificadas individualmente por espécie sendo escolhidas 14 amostras da espécie *P. laevicauda* e 10 amostras da espécie *P. argus*. Estas tiveram seu cefalotórax medido com um paquímetro de Venier de 200mm, com precisão de 0,01mm. A seguir os animais foram dessensibilizados, dissecados, e foram extraídos para fixação: hepatopâncreas, músculo, coração, glândula, brânquias e intestino. Os tecidos para análise histológica foram imersos em Davidson AFA's (11,5% de ácido acético, 22% de formalina e 33% de etanol) por 24 horas e posteriormente transferidos para álcool 70%.

Todas as lagostas utilizadas neste trabalho possuíam autorização de coleta expedida pelo SISBIO com o número da licença: 69768-1. Na tabela 01, podemos observar os tamanhos das lagostas coletadas em cada praia.

Tabela 1- Amostras coletadas, localização, tamanho do cefalotórax e ciclo de vida.

<i>Panulirus laevicauda</i>				<i>Panulirus argus</i>			
Amostra	Local	Cefalotórax	Ciclo de vida	Amostra	Local	Cefalotórax	Ciclo de vida
1	Icapuí	79 mm	Adulto	1	Icapuí	74 mm	Pré-recruta
2	Icapuí	72 mm	Pré-recruta	2	Icapuí	68 mm	Pré-recruta
3	Icapuí	87 mm	Adulto	3	Icapuí	73 mm	Adulto
4	Icapuí	84 mm	Adulto	4	Icapuí	86 mm	Adulto
5	Icapuí	74 mm	Pré-recruta	5	Icapuí	86 mm	Adulto
6	Icapuí	71 mm	Pré-recruta	6	Icapuí	76 mm	Pré-recruta
7	Icapuí	79 mm	Adulto	7	Icapuí	76 mm	Pré-recruta
8	Icapuí	73mm	Pré-recruta	8	Icapuí	92 mm	Adulto
9	Icapuí	80 mm	Adulto	9	Icapuí	73 mm	Pré-recruta
10	Icapuí	80 mm	Adulto	10	Icapuí	76 mm	Pré-recruta
11	Fortaleza	55 mm	Pré-recruta				
12	Fortaleza	52 mm	Pré-recruta				
13	Fortaleza	44,4 mm	Juvenil				
14	Fortaleza	50 mm	Juvenil				

Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

5.2 Coleta de hemolinfa

A hemolinfa foi coletada de todos os indivíduos coletados na Praia de Icapuí em uma sala reservada disponibilizada pela associação de pescadores. As análises dos imunoparâmetros foram realizadas no laboratório BIOMAR, localizado no Departamento de Engenharia de Pesca da UFC.

A hemolinfa foi coletada na veia esternal (Figura 5), localizada na região ventral do cefalotórax higienizado com etanol 70%, com o auxílio de uma seringa de 3ml com agulha e em seguida armazenada em tubo de Falcon de 5ml, e deixada coagular durante o transporte até o Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Camarão Marinho - CEDECAM. A obtenção do soro ocorreu com o maceramento da hemolinfa coagulada seguida por sucessivas centrifugações a 7000 x g por 10min a 4°C. Após obtenção do soro este foi aliquotado em tubos eppendorf e armazenado a -80°C até ser utilizado nas análises de hemaglutinação, concentração proteica, fenoloxidase (PO) e profenoloxidase (proPO) (PERDOMO- MORALES *et al.*, 2007).

Figura 5 - Coleta de hemolinfa.



Fonte - Elaborado pelo autor, 2024.

5.3 Dissecação

Os indivíduos que foram submetidos a dissecação foram mantidos durante 1 hora em gelo. Após foi realizado a medição do comprimento do cefalotórax com o auxílio de um paquímetro Vernier em milímetros (Figura 6).

Após a medição foi realizado um corte contornando o cefalotórax com cuidado para não perfurar os órgãos que se encontravam abaixo. Posteriormente a camada muscular que se encontra após a carapaça e tem o objetivo de proteger os órgãos de possíveis injúrias e perfurações que possam ultrapassar a carapaça foi removida (Figura 7).

Em seguida foi iniciada a coleta dos órgãos sendo o hepatopâncreas o órgão inicial, posteriormente, coração, músculo, gônadas e glândula antenal (Figura 8). Para retirada da glândula antenal, localizada entre as antenas, foi necessário fazer um corte mais acima para localização pois esta pode facilmente ser confundida com o músculo devido sua pequena dimensão e localização pode sofrer avarias durante a dissecação (Figura 9).

Figura 6 – Exemplar de *P. laevicauda* antes da dissecação. Vista ventral (A) e dorsal (B).

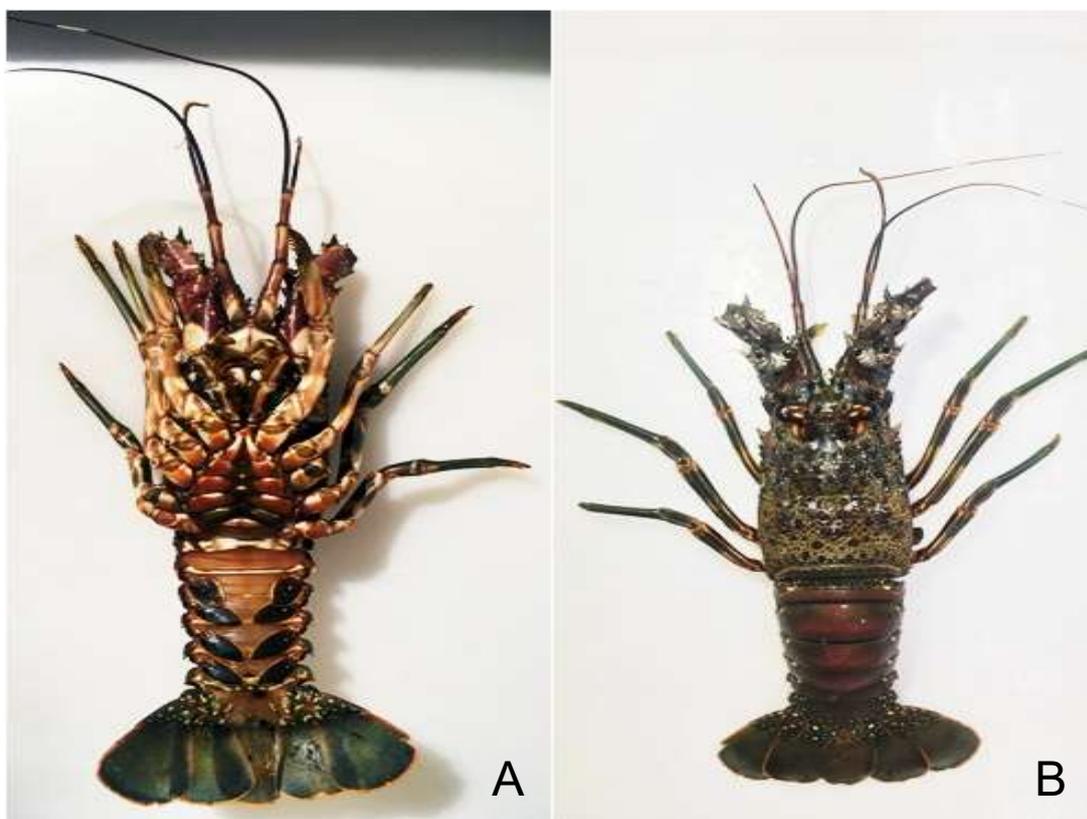


Figura 7 - Exemplar de *P. laevicauda* mostrando: camada muscular encontrada abaixo da carapaça (A) e detalhe dos órgãos após a retirada da musculatura (B).

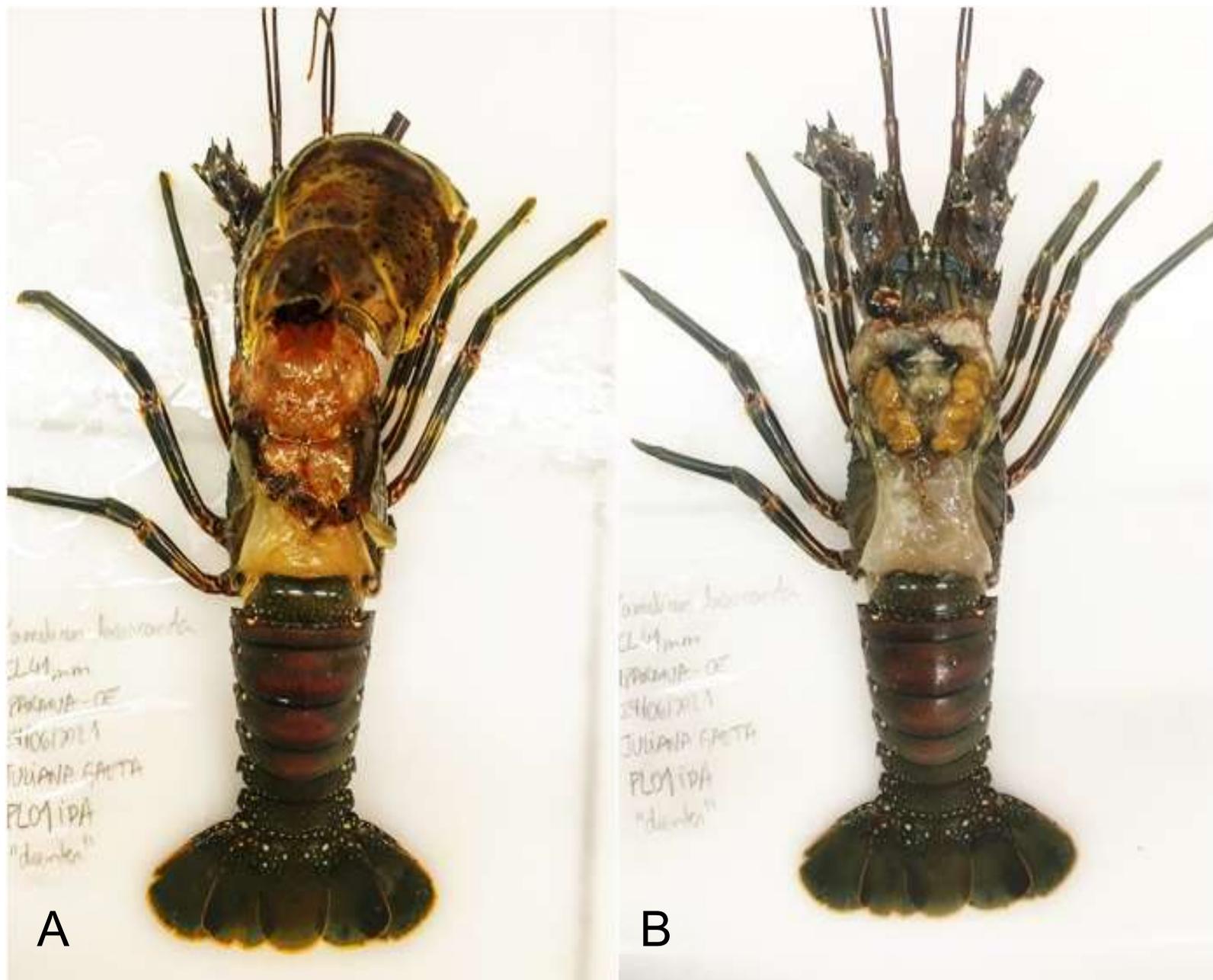
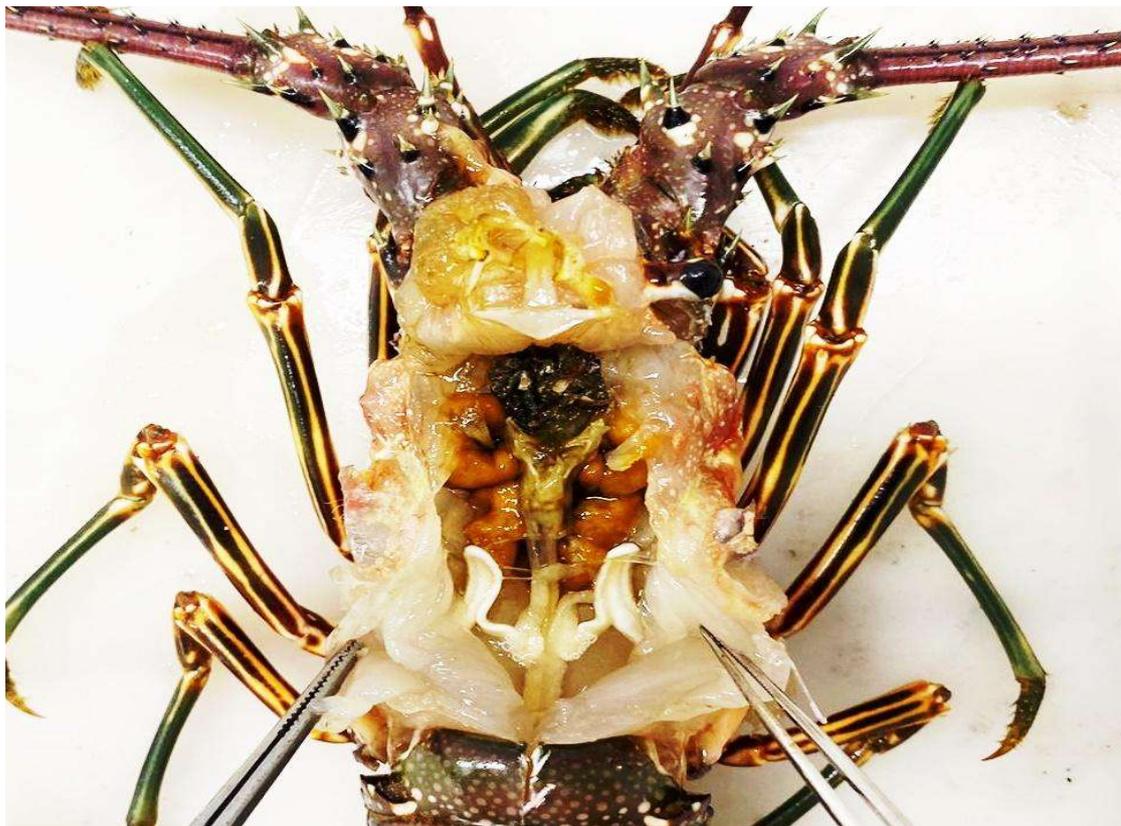
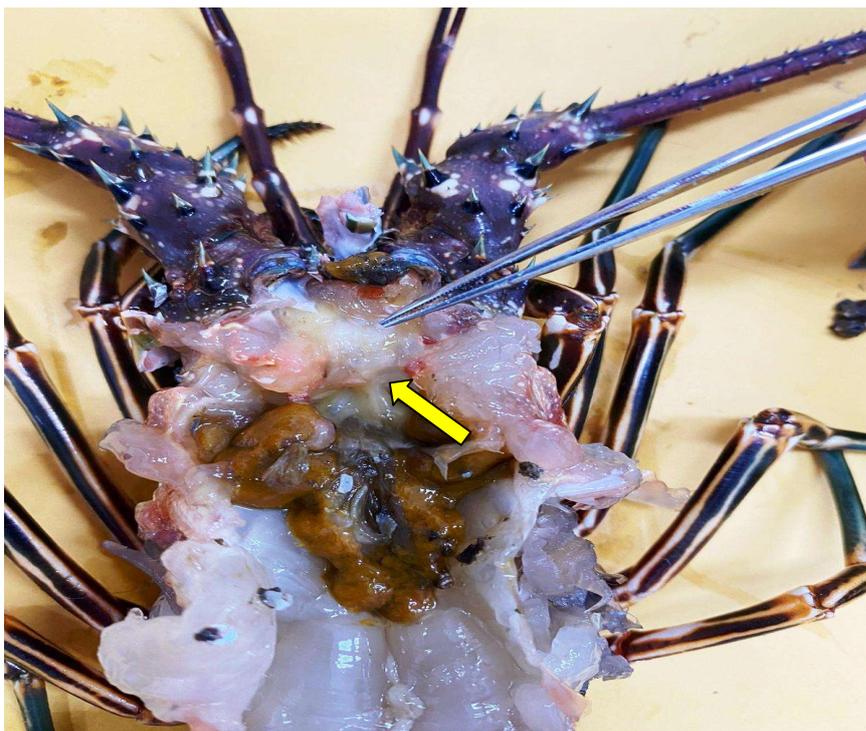


Figura 8 – Vista dorsal de *P. laevicauda* evidenciando os órgãos durante a dissecação.



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 9 – Vista dorsal de *P. laevicauda* evidenciando o hepatopâncreas com coloração amarelada. Observação do Hepatopâncreas, órgão com coloração amarelada. A seta indica a glândula antenal.



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Para a retirada do intestino por completo (anterior, médio e posterior) foi necessário realizar um corte longitudinal na cauda (Figura 10).

Figura 10 – Vista dorsal mostrando o corte longitudinal na cauda para retirada do intestino.



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Antes da fixação de alguns órgãos para histologia teve que ser realizado cortes (longitudinais ou horizontais) para que permitissem ser observadas estruturas específicas do mesmo. Para a observação dos labirintos na glândula antenal faz-se necessário a realização de corte transversal no órgão. No hepatopâncreas e músculo recomendamos realizar cortes longitudinais e transversais para observação de todos os ângulos dos túbulos e fibras, respectivamente.

5.4 Análise histológica

Para as análises histológicas, as lagostas coletadas (N=24), sendo 14 de *Panulirus laevicauda* e 10 de *Panulirus argus* foram anestesiadas em gelo durante 20

minutos e, posteriormente, foi realizada a dissecação. Seguiu-se o protocolo histológico utilizado por Herrera-Salvatierra *et al.* (2019) amostrando-se tecidos de glândula antenal, coração, hepatopâncreas, brânquias, músculo da cauda e intestino. Estes foram armazenados em histocassetes e imersos em solução de Davidson AFA's (11,5% de ácido acético, 22% de formalina e 33% de etanol) por 24 horas.

Após 24h, os histocassetes foram retirados da solução de Davidson e armazenados em álcool 70%. O processamento dos tecidos ocorreu segundo a metodologia empregada por Bell e Lightner (1988) sendo realizado no processador automático LUPETEC PT05 por meio de banhos de imersão nos histocassetes em série alcoólica crescente de 70%, 80%, 90% e 100%, diafanizados em xilol e infiltrados em parafina, cada imersão durava 1 hora. Posteriormente, com o auxílio do emblocador HESTION TEC 2800 realizou-se a adição de parafina dos tecidos que foram retirados do histocassetes e posicionados em moldes, estes solidificaram sobre placa fria. Após 24 horas, cortes histológicos de 5 µm de espessura foram realizados no micrótomo LEICA MR2125RT e colocados em água pré-aquecida (40°C) visando uma melhor distensão. Os cortes foram coletados em lâminas histológicas as quais foram previamente preparadas com albumina e em seguida colocadas para secagem e posterior coloração. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina seguindo o protocolo descrito por Lightner (1996) e em seguida montadas com Entellan. A análise ocorreu em microscópio de luz DM 500 (Leica®) de acordo com Shields & Boyd (2014), Li *et al.* (2008) e Ross *et al.* (2019).

5.5 Hemaglutinação

A hemaglutinação foi realizada em 3 amostras escolhidas aleatoriamente de cada espécie. Utilizando-se uma microplaca de fundo em U foi adicionado 50 µl de plasma e 50 µl de eritrócitos de coelho solução 2%. A diluição foi realizada até a última diluição que mostrou nível visível de aglutinação (CORNICK & STEWART, 1973).

5.6 Concentração proteica de lagostas

A concentração proteica do plasma foi realizada de acordo com o protocolo

de Bradford (1976) utilizando a albumina sérica bovina (BSA) como proteína padrão. Todas as amostras foram realizadas em triplicata com a diluição de 10 vezes.

5.7 Determinação da fenoloxidase (PO) e da profenoloxidase (proPO)

A reação da fenoloxidase ocorreu utilizando-se 50 µl do plasma das lagostas coletadas em Icapuí, diluído 15 vezes em TBS (TRIS 10 mM, NaCl 336 mM, CaCl₂ 5 mM, MgCl₂ 10 mM, pH 7,6), adicionado com 50 µl de L-DOPA (3mg/ml) e 50 µl de tripsina (SIGMA) (1mg/ml), foram incubados por 20 min e mediu-se a absorbância (SÖDERHÄLL & HALL, 1984). O Total (profenoloxidase e fenoloxidase) foi medido através do plasma diluído 15 vezes adicionado com 50 µL de tripsina (SIGMA) (1mg/ml), após incubação de 20 min foi medido no espectrofotômetro. As absorbâncias das reações foram medidas a 490 nm por 30 s em uma microplaca ELISA leitor (modelo 550; Bio-Rad). A reação controle foi realizada apenas com a adição de 50 µl de TBS.

Os resultados foram expressos como incremento de 0,001 na densidade óptica (DO). A profenoloxidase foi determinada através da diferença do valor Total e da fenoloxidase (proPO = Total – PO) (HERNÁNDEZ *et al.*, 2003).

5.8 Extração de DNA

Em laboratório o DNA genômico total foi extraído de 1mg do tecido muscular estocado através da metodologia padrão de digestão de Proteinase K e extração por fenol:clorofórmio:álcoolisoamílico adotada por Sambrook *et al.* (1989). A integridade do DNA foi verificada em gel de eletroforese 1%, e a amostra quantificada por espectrofotometria em aparelho do tipo Nanodrop, sendo selecionadas apenas as amostras que estavam entre 1,8 e 2,0 na relação 240/250.

Para validação da amostra de DNA utilizou-se a PCR convencional para os marcadores COI (primers HCO2198 TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA e LCO1490 GGTCACAAATCATAAAGATATTGG; FOLMER *et al.*, 1994) e 16S (primers 16Sbr CCGGTCTGAACTCAGATCACGT e 16Sar CGCCTGTTTATCAAAAACAT; PALUMBI, 1996). As condições de termociclagem encontram-se na tabela 02.

5.9 Reação em cadeia da polimerase

Para a detecção e diagnóstico molecular de PaV1 foram utilizados os iniciadores espécie específicos do vírus que consistem em 45a (TTCCAGCCCA GGTACGTATC) e 543a (AACAGATTTTCCAGCAGCGT; MONTGOMERY-FULLERTON *et al.* 2007). Para a detecção e diagnóstico molecular de WSSV utilizou-se os iniciadores para nested-PCR, sendo os iniciadores externos para o primeiro passo ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG e TAATGCGGGTGTAAATGTTCTTACGA, e os iniciadores internos para o segundo passo GTAAGTGGCCCTTCCATCTCCA e TACGGCAGCTGCTGCACCTTGT (LO *et al.*, 1996). A detecção de microsporídeo foi realizada com os iniciadores V1 (CACCAGGTTGATTCTGCCTGAC) e 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) (Zhu *et al.* 1993). As reações utilizadas apresentavam 10 µL de volume final, onde se utilizou 0,02 µL do Taq® DNA Polymerase (Invitrogen®); 0,5 µL (10 µM) de ambos os primers; 0,2 µL de dNTP (0,2 mM); 1 µL de tampão; 0,3 µL de MgCl₂; 6,42 µL de água ultrapura (Invitrogen®) e 1 µL (100 ng) de DNA. As condições de termociclagem utilizadas estão descritas na tabela 02. Os resultados da PCR convencional foram verificados por eletroforese em géis de agarose a 1%.

Tabela 2 - Condições de termociclagem utilizadas para os primers COI, 16S, WSSV, PaV1 e Microsporidium.

Primers	Condições de Termociclagem				N° de ciclos
	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão final	
COI	94°C - 40s	52°C - 60S	72°C - 60s	72°C - 10 min	30
16S	94°C - 40s	60°C - 60S	72°C - 60s	72°C - 10 min	30
WSSV - PASSO 1	94°C - 60s	55°C - 60S	72°C - 2 min	72°C - 5 min	40
WSSV - PASSO 2	94°C - 20s	56°C - 60S	72°C - 60s	72°C - 5 min	40
PaV1	94°C - 30s	51°C - 60S	72°C - 1 min	72°C - 10 min	30
Microsporidium	94°C - 60s	52°C - 60S	72°C - 2 min	72°C - 5 min	40

Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

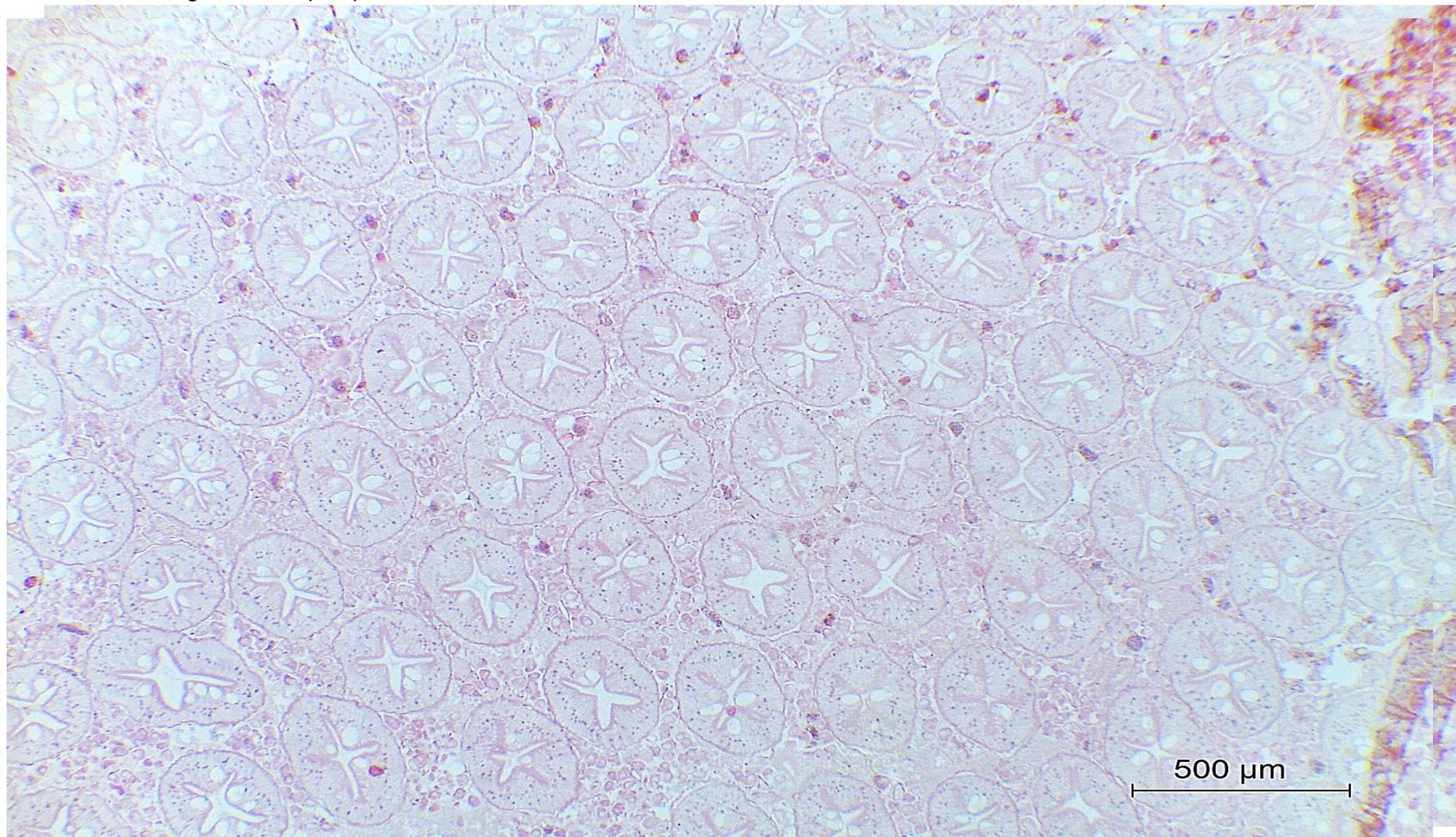
6.1 Histologia

Foram confeccionadas 272 lâminas referentes ao hepatopâncreas, glândula antenal, músculo, coração, brânquias e intestino pertencentes a 24 lagostas da espécie *P. laevicauda* (n=172) e *P. argus* (n=100). Destas foi feita uma separação entre lâminas boas e ruins, sendo selecionadas 78 lâminas com boa resolução, ou seja, apresentavam boa fixação e coloração, pois devido às várias etapas de processamento alguns tecidos podem ser distorcidos pelo fixador, etanol ou pelo calor da parafina. Nestas distorções podem aparecer espaços artificiais nas células, perda de moléculas, pregas nos cortes, precipitados de corante ou sujeiras nas lâminas. Estas lâminas classificadas como ruins apresentavam artefatos técnicos, coloração ineficiente e/ou tecido mal fixado, sendo descartadas.

6.1.1 Hepatopâncreas

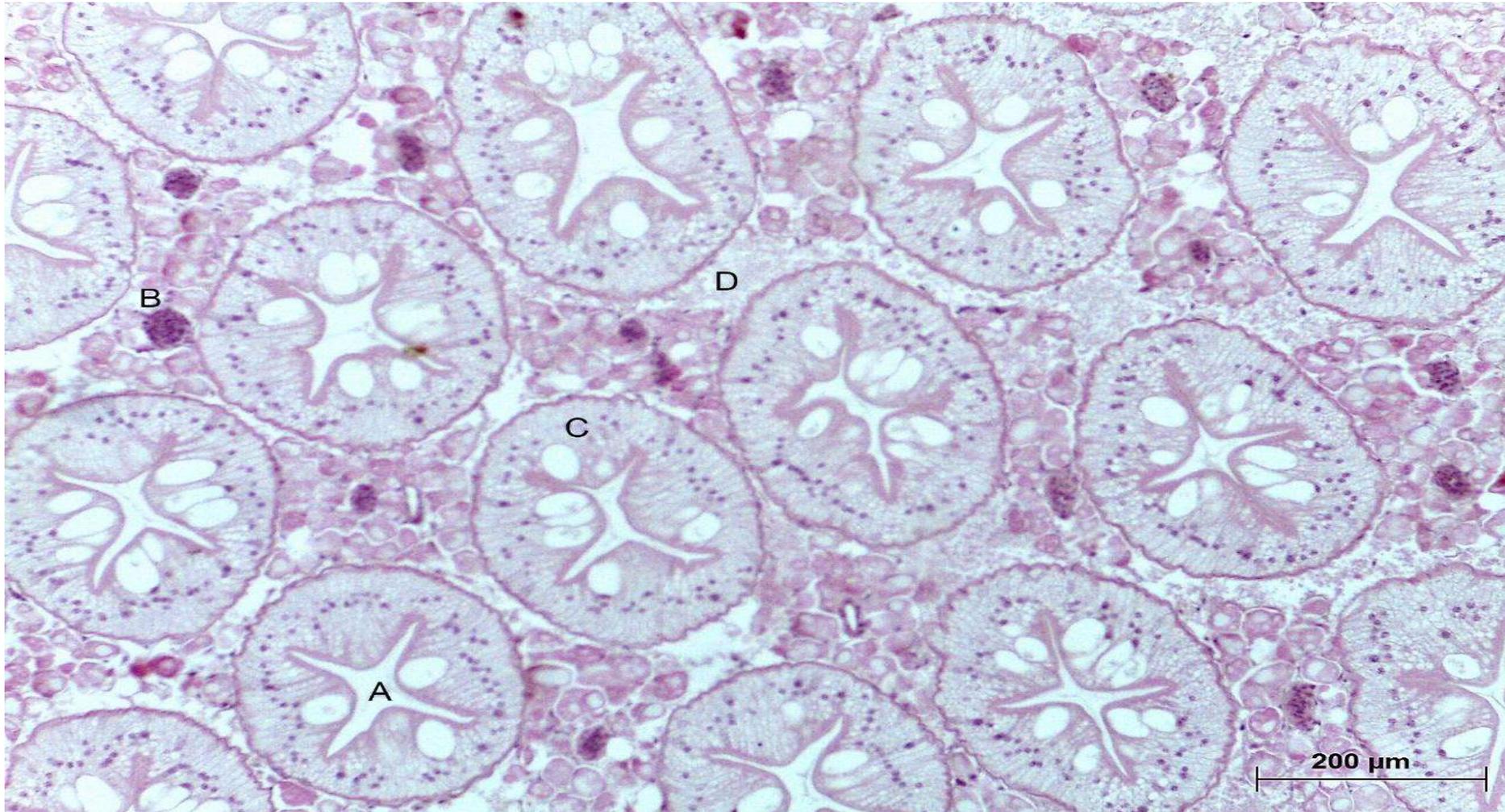
O hepatopâncreas apresentou lâminas com boas imagens para as duas espécies estudadas, sendo *P. laevicauda* com maior quantidade, logo permitindo identificar maior número de estruturas e células. As estruturas que foram observadas neste órgão foram: túbulos hepatopancreáticos, identificados facilmente desde as menores resoluções (figura 11); o lúmen, fagócito fixo e o espaço hemal (figura 12 e 13); células B, R e F (figura 14).

Figura 11 - Fotomicrografia do hepatopâncreas de *Panulirus laevicauda*.



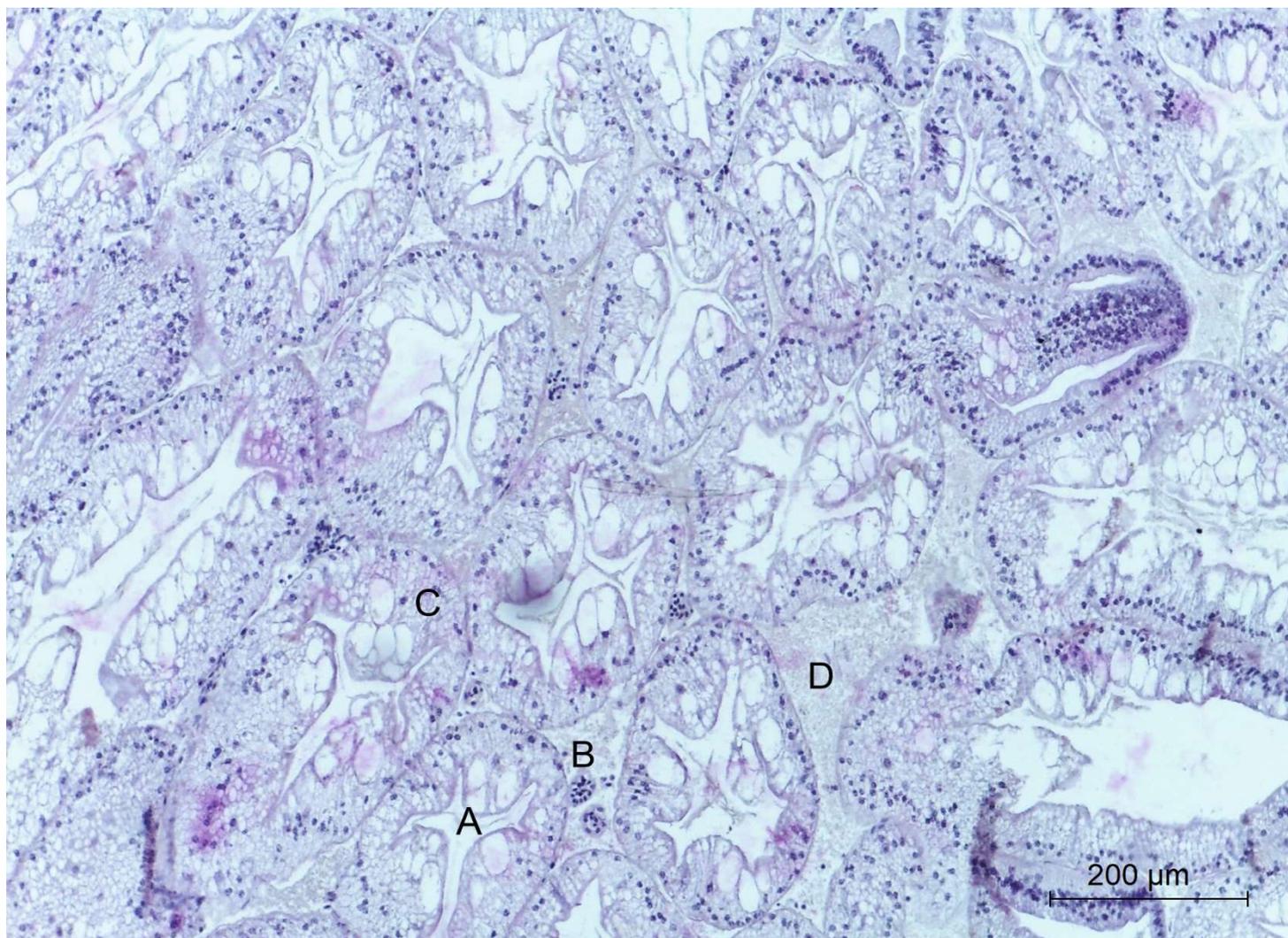
Fonte - Elaborado pelo autor, 2024.

Figura 12 – Fotomicrografia do hepatopâncreas de *Panulirus laevicauda* mostrando o lúmen do túbulo hepatopancreático (A), fagócito fixo (B), túbulo hepatopancreático (C) e espaço hemal entre os túbulos (D).



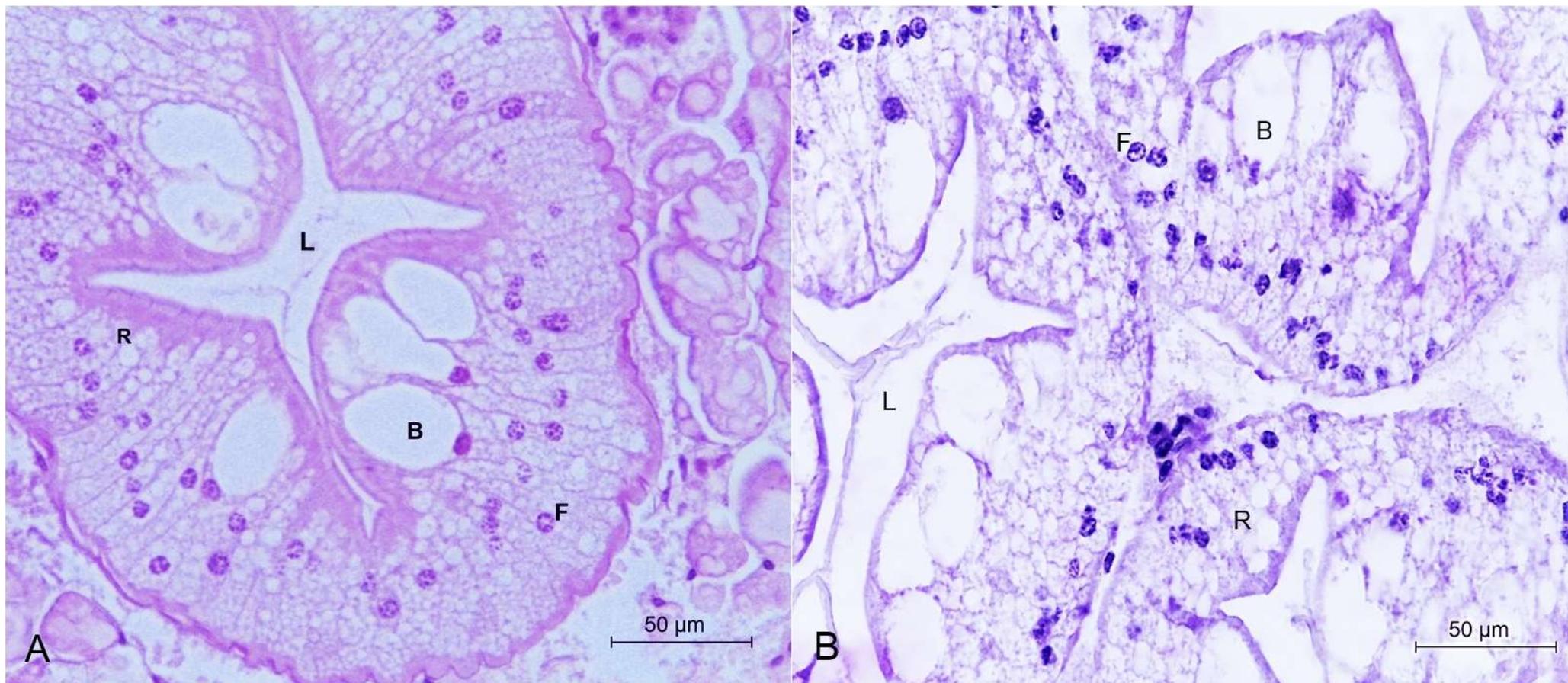
Fonte – Elaborado pelo autor, 2024.

Figura 13 – Fotomicrografia do hepatopâncreas de *Panulirus argus* mostrando o lúmen do túbulo hepatopancreático (A), fagócito fixo (B), túbulo hepatopancreático (C) e espaço hemal entre os túbulos (D).



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 14 - Fotomicrografia do túbulo hepatopancreático de *Panulirus laevicauda* (A) e *Panulirus argus* (B). L - Lúmen, B - célula b, R - célula R, F- célula F.



Fonte - Elaborado pelo autor, 2024.

Na lagosta *P. laevicauda* e *P. argus* foi possível identificar facilmente o hepatopâncreas, órgão de coloração amarelada, presente na lateral direita e esquerda. Este foi um dos tecidos que apresentou menor número de lâminas de boa qualidade. Segundo Atherley *et al.* (2020) o hepatopâncreas sofre autólise rapidamente, então indica-se que seja retirado uma amostra para fixação antes do término da dissecação. Logo, atribuímos que a amostra tenha se degradado antes de sua fixação. O órgão é considerado multifuncional (CHAVEZ-CROOKER *et al.*, 2003), composto por túbulos que secretam enzimas responsáveis por vários processos celulares entre eles a síntese e secreção de enzimas digestivas e absorção de nutrientes (FACTOR, 1995). Além destas funções o hepatopâncreas também é responsável pelo armazenamento de compostos orgânicos e inorgânicos.

Ao observarmos as lâminas histológicas nas ampliações menores podemos identificar vários túbulos ocos e um espaço hemal. Ampliações maiores permitem a observação de diferentes estruturas dentro dos túbulos ou no espaço intersticial, podendo ser visualizado os túbulos hepatopancreáticos, fagócitos fixos, reserva de inclusão, seio hemal, o lúmen dos túbulos e diferentes células (células B, F e R), o mesmo foi destacado por Ross *et al.* (2019). As células E e M não foram identificadas nas lâminas confeccionadas.

A identificação das células observadas pode ser facilmente reconhecida de acordo com suas características. A célula E é encontrada no ápice do túbulo ou zona distal, são reconhecidas pelo núcleo expandido, maior do que a quantidade de citoplasma. Estas são consideradas multipotentes, ou seja, capazes de gerar as células maduras (B, F e R). Portanto são denominadas células tronco ou imaturas (VOGT, 2019).

A célula B é mais facilmente detectada, devido ser rica em lipídios, aparecendo como uma grande célula oca com o núcleo na margem da sua parede celular. Esta é responsável pela secreção de enzimas nos túbulos hepatopancreáticos (AL-MOHANNA *et al.*, 1986). Identificada na zona de células B ou região média, são descarregadas na zona proximal por secreção halócrina devido atuarem no processo digestivo (VOGT, 2019). Células F e R podem ser encontradas na região média dos túbulos e proximal. A célula F, ou fibrilar, é responsável por sintetizar enzimas digestivas, logo pode ser identificada pela presença de grânulos em seu citoplasma. Segundo Vogt (2019), esta característica é devido à presença abundante de retículo

endoplasmático rugoso, corpos de golgi e grandes núcleos com nucléolos proeminentes. As células R são as mais abundantes no hepatopâncreas, responsáveis pela absorção de nutrientes, podendo armazenar grandes quantidades de reserva de energia, lipídios e glicogênio. Estes são catabolizados durante a muda, fome e vitelogênese (VOGT, 2019; STRUS *et al.*, 2019). Ao serem observadas em lâminas histológicas podem ser reconhecidas por apresentarem característica disformes, ocas e diferentes tamanhos, variando de acordo com o estágio de muda e reservas do organismo.

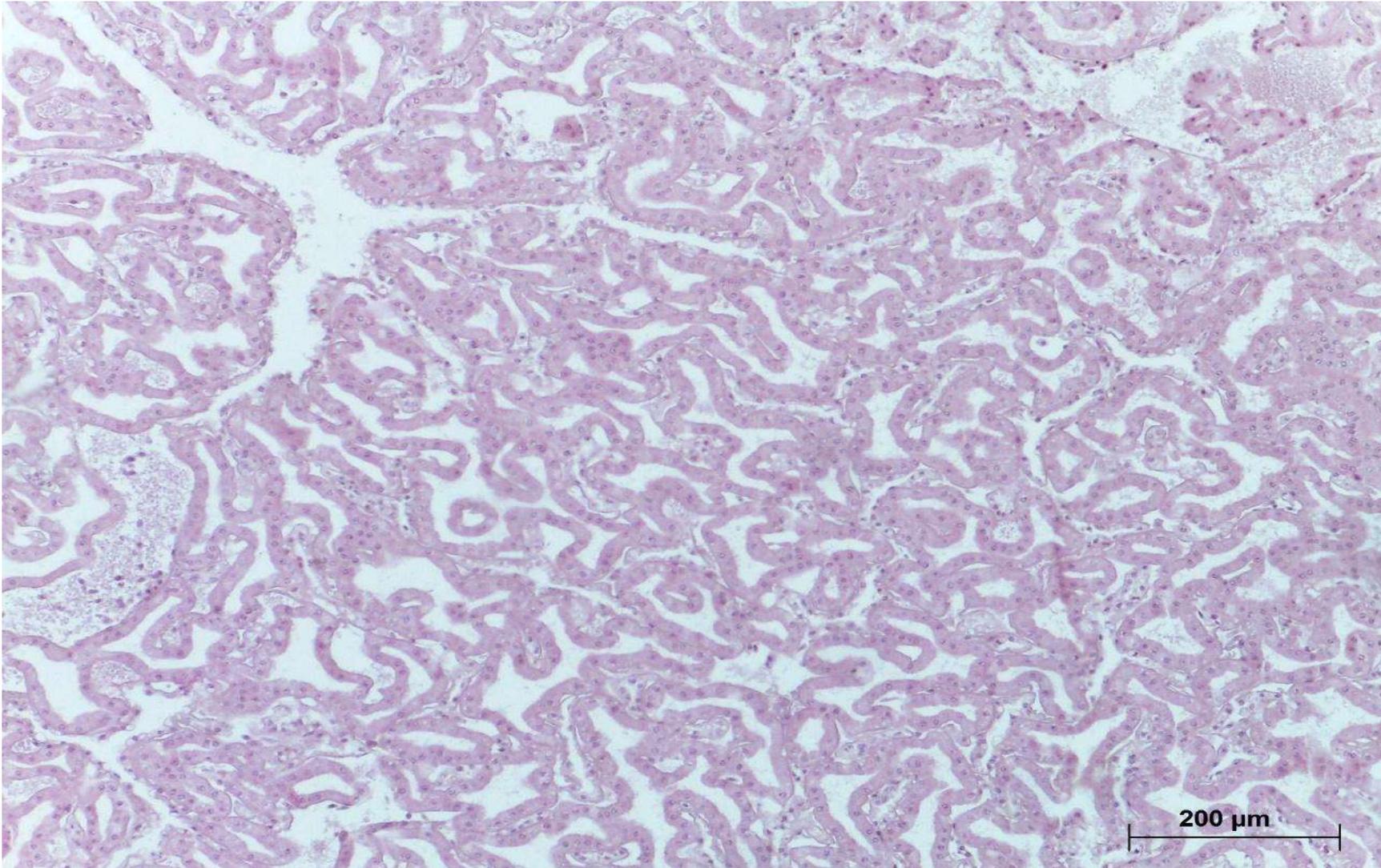
Células M são consideradas as menores e menos frequente células do hepatopâncreas, são consideradas células de armazenamento endócrino, identificadas em contato com a hemolinfa e distantes do lúmen (VOGT, 2019).

O espaço entre os túbulos é preenchido pelo tecido conjuntivo, denominado de espaço hemal. Nesta região podemos observar reservas de inclusão (RI), consideradas reservas energéticas e de hemocianina do organismo (ROSS *et al.*, 2019), arteríolas e fagócitos fixos. As arteríolas liberam hemolinfa no espaço hemal e sua camada de células externa são denominados fagócitos fixos. Estes são responsáveis pela eliminação de partículas estranhas (FATOR & NAAR, 1990). Algumas enfermidades como a infecção por PaV1 pode ser caracterizada pela ausência de reservas de inclusão em seu estágio mais avançado, levando o organismo a morte por exaustão e anemia (SHIELDS & BEHRINGER, 2004; Li *et al.*, 2008). Alguns parasitas podem ser encontrados nesta região como o dinoflagelado *Hematodium* observado por Field & Appleton (1995).

6.1.2 Glândula antenal

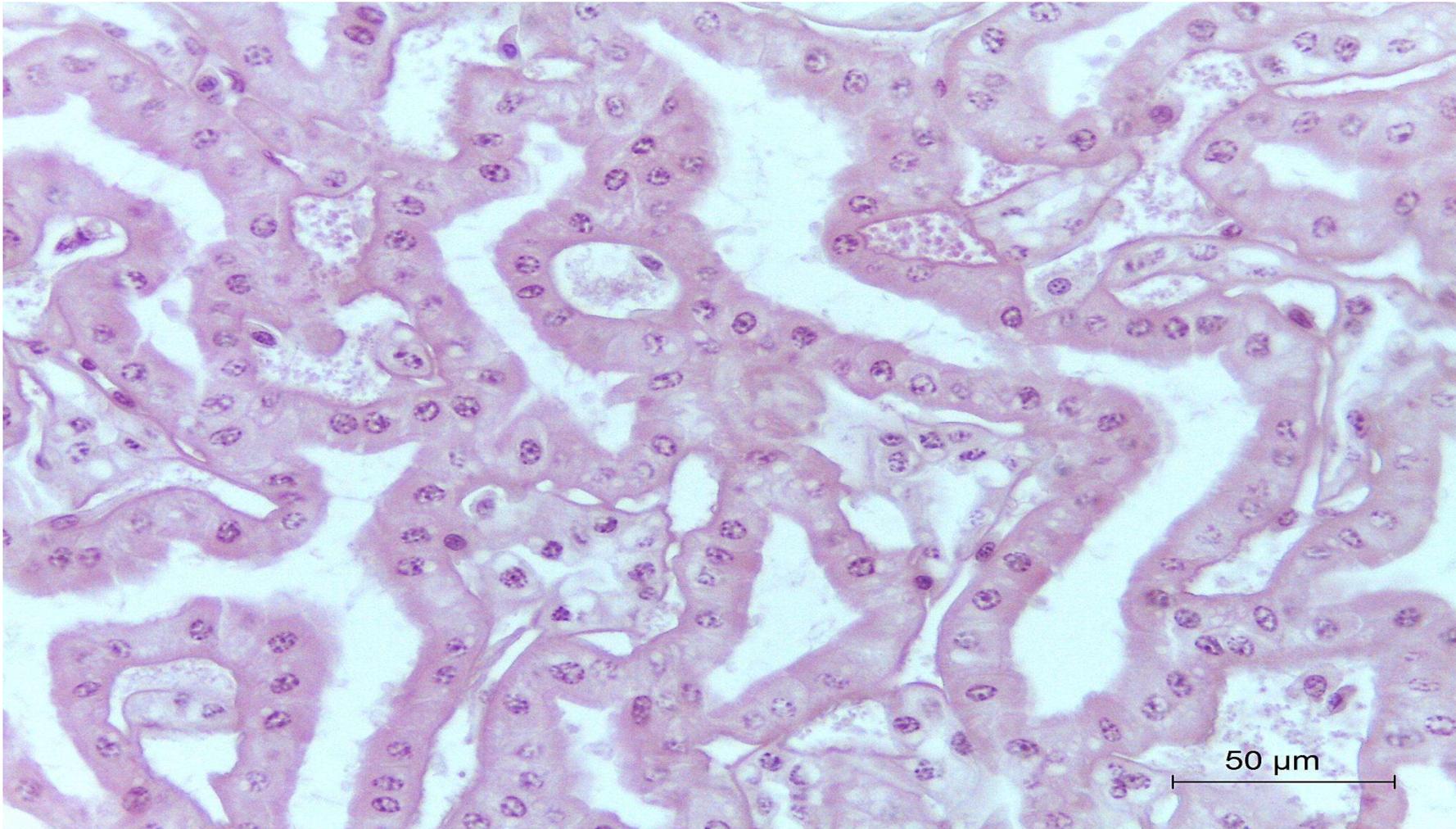
A glândula antenal foi possível de ser observada apenas nas lâminas confeccionadas de um organismo da espécie *P. laevicauda*, podendo ser analisado os labirintos e seu lúmen nas figuras 15,16 e o canal que transporta sua excreta na figura 17.

Figura 15 – Fotomicrografia da glândula antenal evidenciando os labirintos de *Panulirus laevicauda*.



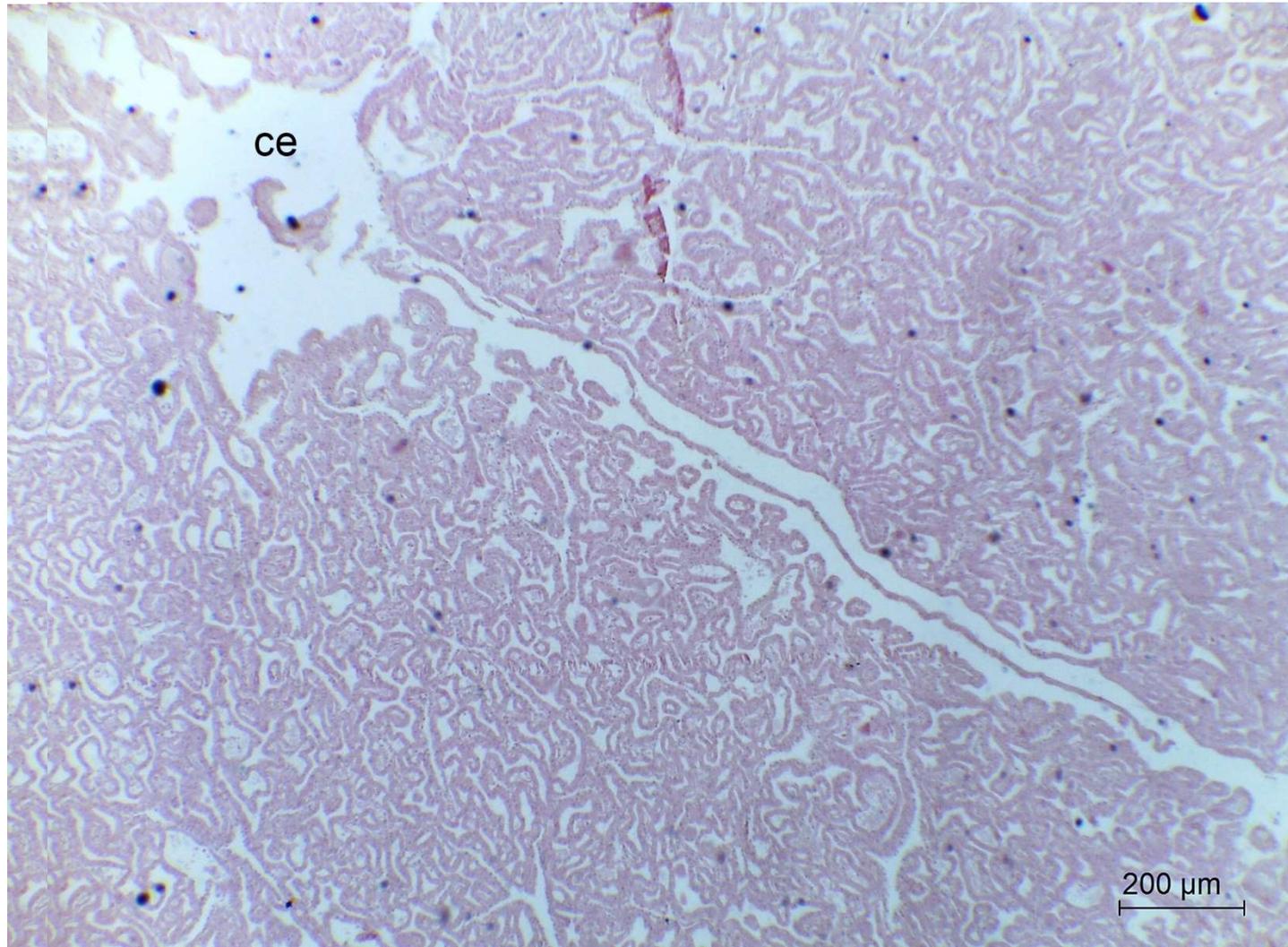
Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 16 - Fotomicrografia dos labirintos evidenciando o tecido epitelial simples e seu lúmen de *Panulirus laevicauda*.



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 17 - Fotomicrografia da glândula antenal de *Panulirus laevicauda* com seu celomosaco (ce) em evidência, canal excretor.



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

A glândula antenal, também conhecida como glândula verde, é responsável pela excreção e osmorregulação (SHIELDS & BOYD, 2014), regulando o volume da hemolinfa e sua concentração de magnésio e sulfato, além de reabsorver líquidos, açúcares e aminoácidos do filtrado primário da urina (RIEGEL & COOK, 1975). A glândula antenal é um dos órgãos responsáveis pela função excretora e regulação de íons, nutrientes e outros solutos, atuando como os rins dos vertebrados (MANTEL & FARMER, 1983). Além destas funções, nas lagostas a urina apresenta hormônios que influenciam na dominância social (KATOH *et al.*, 2008).

Localizada na transição do pedúnculo para o cefalotórax, é identificada como um órgão esbranquiçado e com formato similar a um grão de feijão, composta pelo celomosaco, labirintos e um ducto terminal que inicia na bexiga e finaliza no nefróporo (GAËTAN *et al.*, 2020). Seus túbulos do labirinto são revestidos por tecido epitelial simples e cúbico, nas lâminas histológicas estes são visíveis apenas quando realizado um corte transversal do órgão. Neste trabalho o labirinto foi a estrutura mais aparente (figura 13), sendo o mesmo observado por KHODABANDEH *et al.* (2005). Os labirintos são responsáveis pela filtração da hemolinfa.

O celomosaco é visível apenas quando seccionado, visto que o labirinto o envolve completamente (ROSS *et al.*, 2019), apresentando um lúmen central envolto por podócitos com grandes núcleos e pouco citoplasma, podendo se ramificar para gerar os túbulos do labirinto (GAËTAN *et al.*, 2020). A hemolinfa que será filtrada é fornecida através da artéria antenal que se ramifica por todo o celomosaco, sendo realizada a ultrafiltração. O ultrafiltrado é conduzido pelos labirintos que irão reter as partículas maiores, grandes moléculas, íons e fluidos. Estas serão liberadas por pinocitose, portanto, a eliminação de resíduos e a regulação da pressão osmótica também é função dos labirintos, que acabam realizando uma detoxificação do organismo (GAËTAN *et al.*, 2020).

Após finalizada a ultrafiltração, o ultrafiltrado é direcionado ao ducto terminal, ou canal excretor, que o conduzirá até a bexiga urinária, atingindo a pressão necessária, por meio do ducto curto e conduzido ao nefróporo ou poro de saída e conseqüentemente ao meio externo (GAËTAN *et al.*, 2020).

6.1.3 Músculo

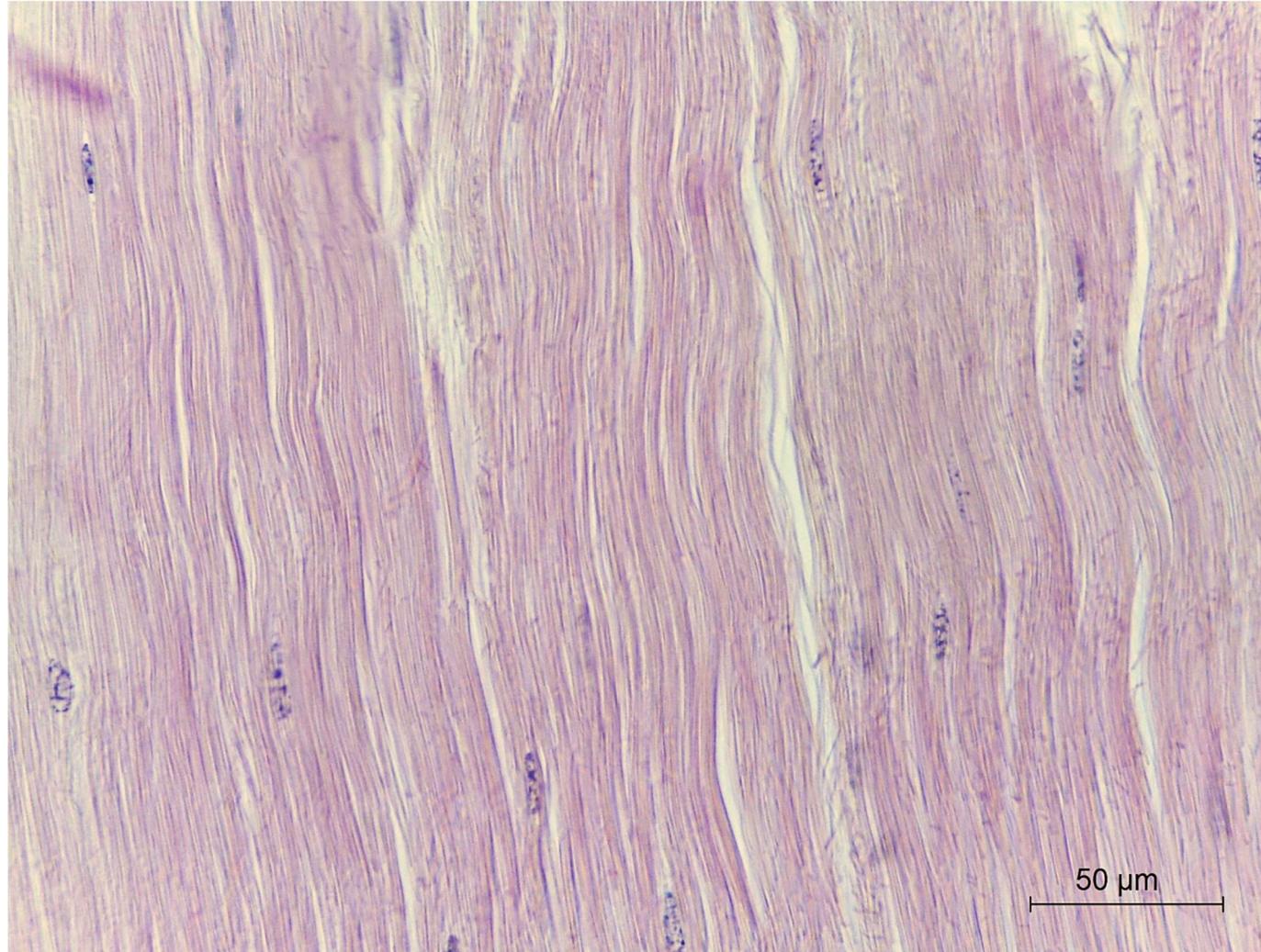
Lâminas do músculo permitiram a observação do tecido em corte longitudinal (figura 18 e 19) e transversal (figura 20) para as duas espécies. Na figura 18 podemos observar uma lâmina de músculo e suas fibras musculares.

Figura 18 – Fotomicrografia do corte longitudinal do tecido muscular de *Panulirus laevicauda*. N – Núcleo do fibroblasto.



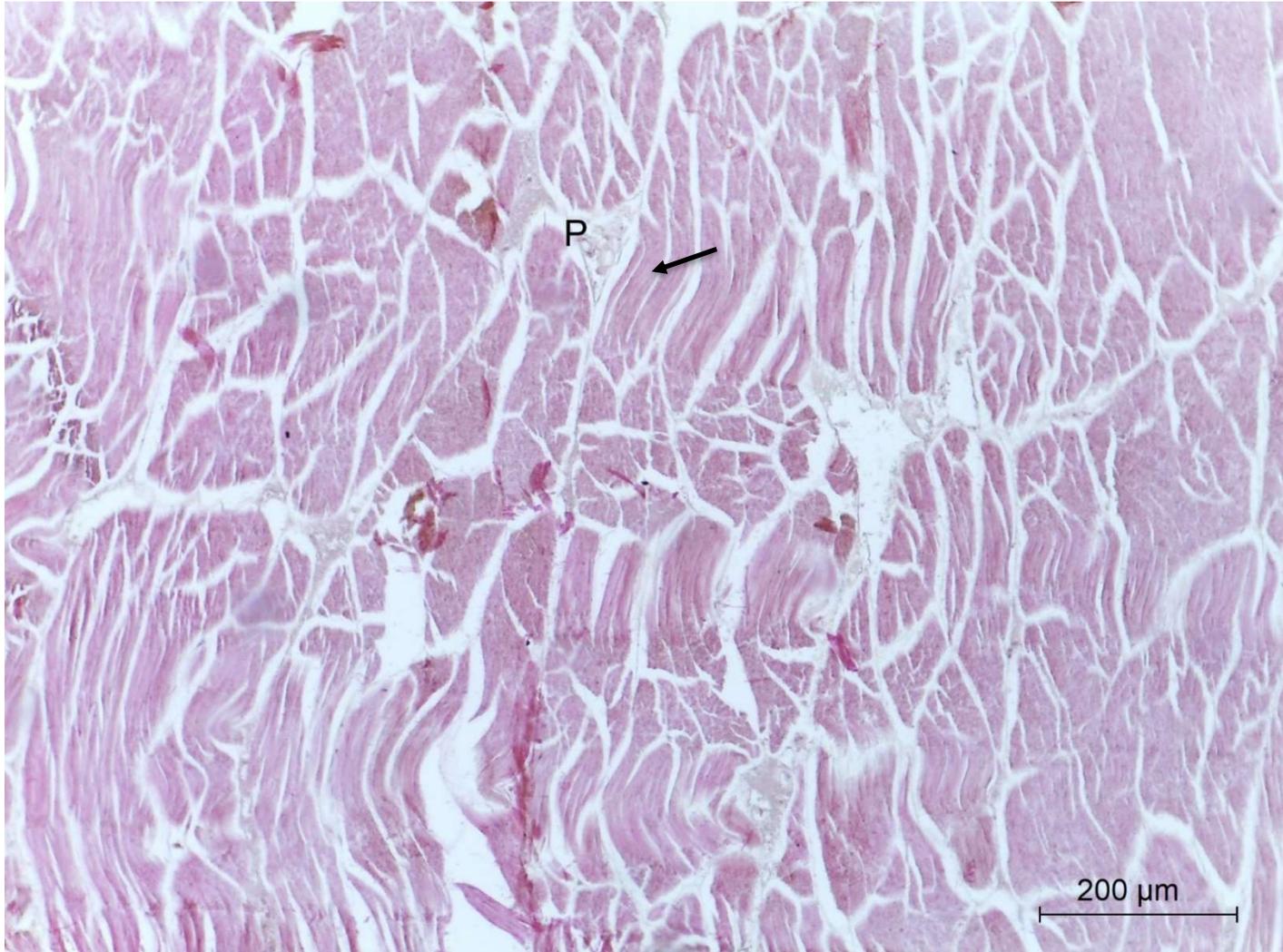
Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 19 - Fotomicrografia do corte longitudinal do músculo de *Panulirus argus*.



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 20 – Fotomicrografia do corte transversal do tecido muscular de *Panulirus laevicauda*. P – Perímísio, a seta preta indica um feixe de fibras musculares.



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

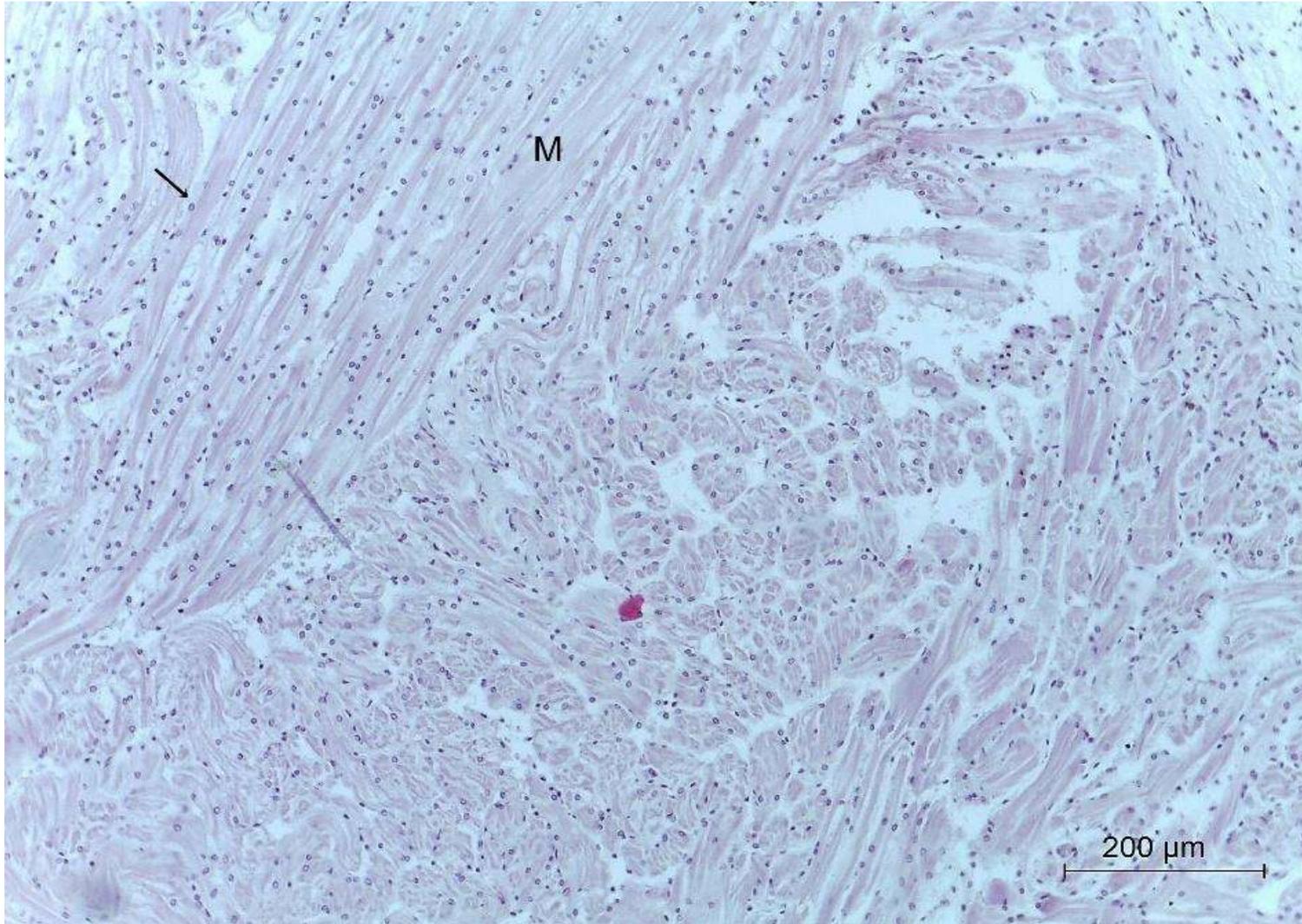
O tecido muscular é responsável pela locomoção. Suas lâminas histológicas apresentam fibra muscular e núcleo. Entre as fibras musculares encontramos tecido conjuntivo, neste podemos observar nervos e vasos sanguíneos que irão suprir o músculo. O tecido conjuntivo localizado entre as fibras em menor proporção é denominado endomísio, o seu conjunto é denominado perimísio, e o tecido conjuntivo que o circunda é denominado epimísio, podendo as fibras estarem densamente justapostas e dificultarem a observação do endomísio e perimísio (MIZUTA *et al.*, 1994).

Algumas patologias podem ser observadas através de lâminas histológicas do músculo, como a infecção por microsporidium, ao qual sua principal sintomatologia é a presença da musculatura da cauda esbranquiçada. Isto ocorre devido o hospedeiro infectar o músculo e substituir o sarcoplasma por cistos, estágio inicial do parasita (STENTIFORD *et al.*, 2014). Os principais parasitas que infectaram decápodes pertenciam aos gêneros *Ameson*, *Nadelspora*, *Thelohania* e *Myospora* (STENTIFORD *et al.*, 2014).

6.1.4 Coração

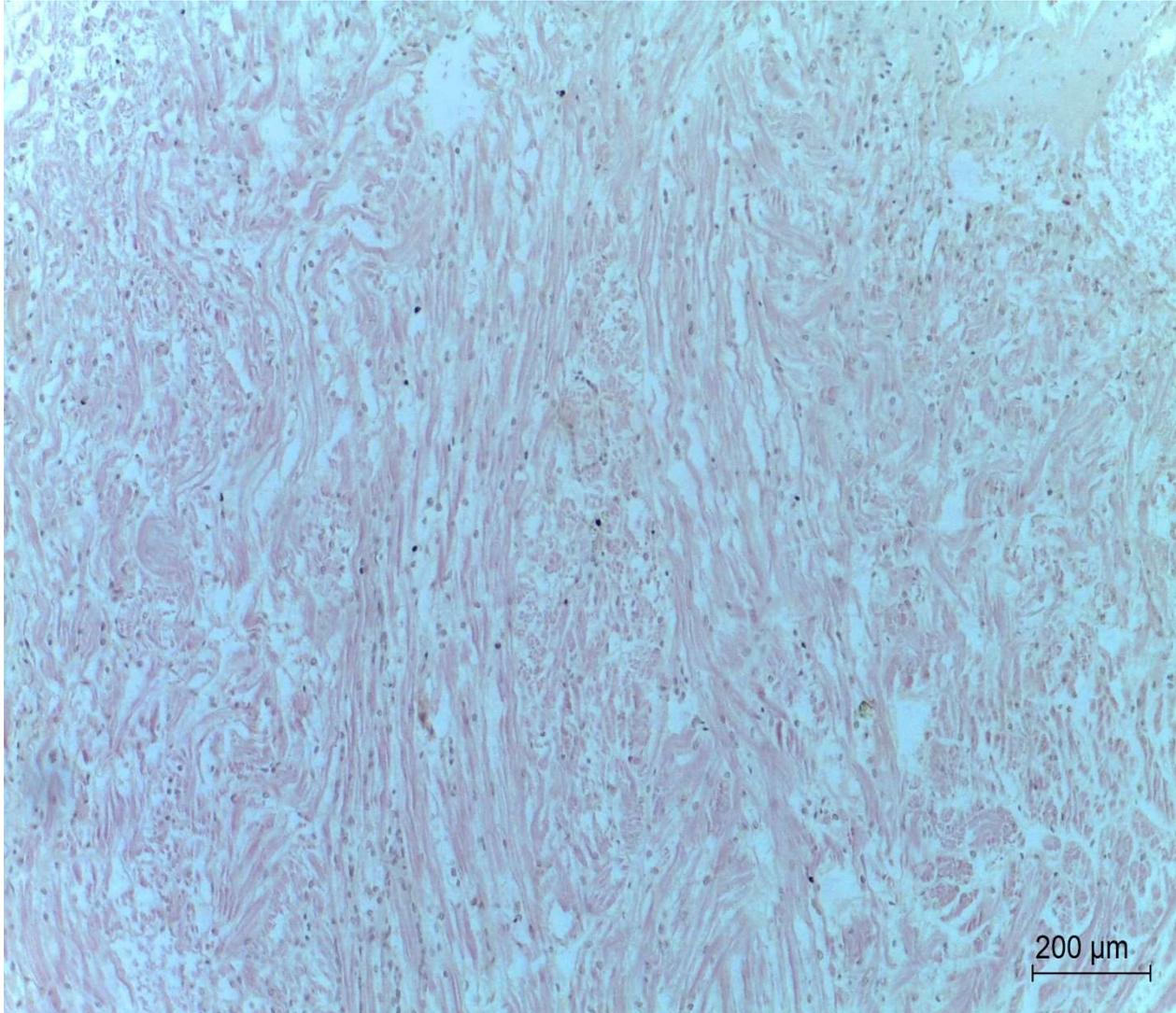
As espécies *P. laevicauda* e *P. argus* apresentaram lâminas de coração com boa qualidade. Sendo classificada mais de uma lâmina para uma amostra. Nas lâminas do coração pode ser observado o miocárdio, composto por miofibrilas, tecido conjuntivo, hemócitos e reserva de inclusão (RI). Nas figuras 21, 22, 23 e 24 podemos observar estruturas encontradas nas lâminas de coração como granulócitos, hemolinfa coagulada, infiltração hemocítica e fagócito.

Figura 21 – Fotomicrografia do coração de *Panulirus laevicauda*. Sendo observado o miocárdio com a presença de miofibrilas (M) e hemócitos (indicados pela seta preta).



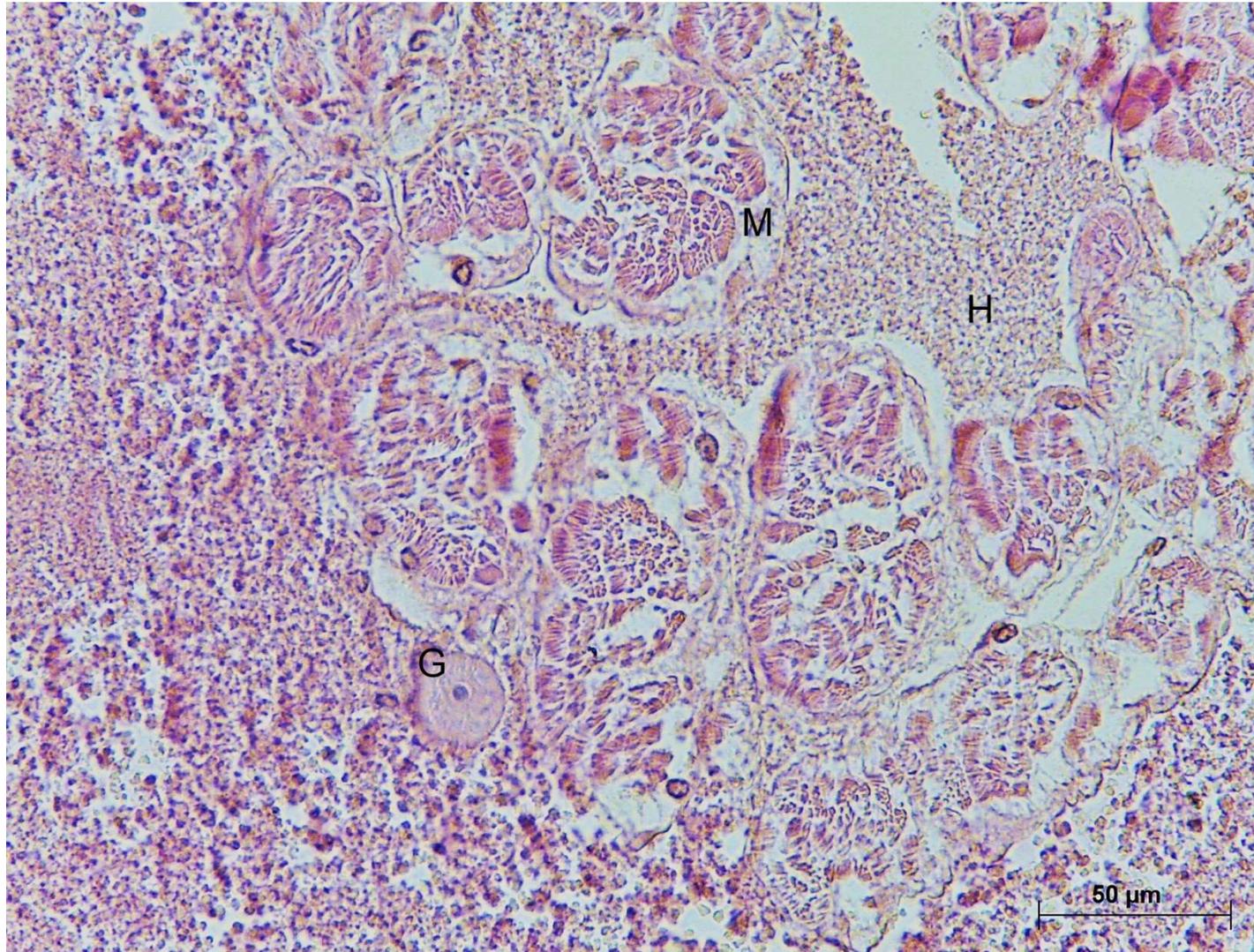
Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 22 - Fotomicrografia do coração de *Panulirus argus*.



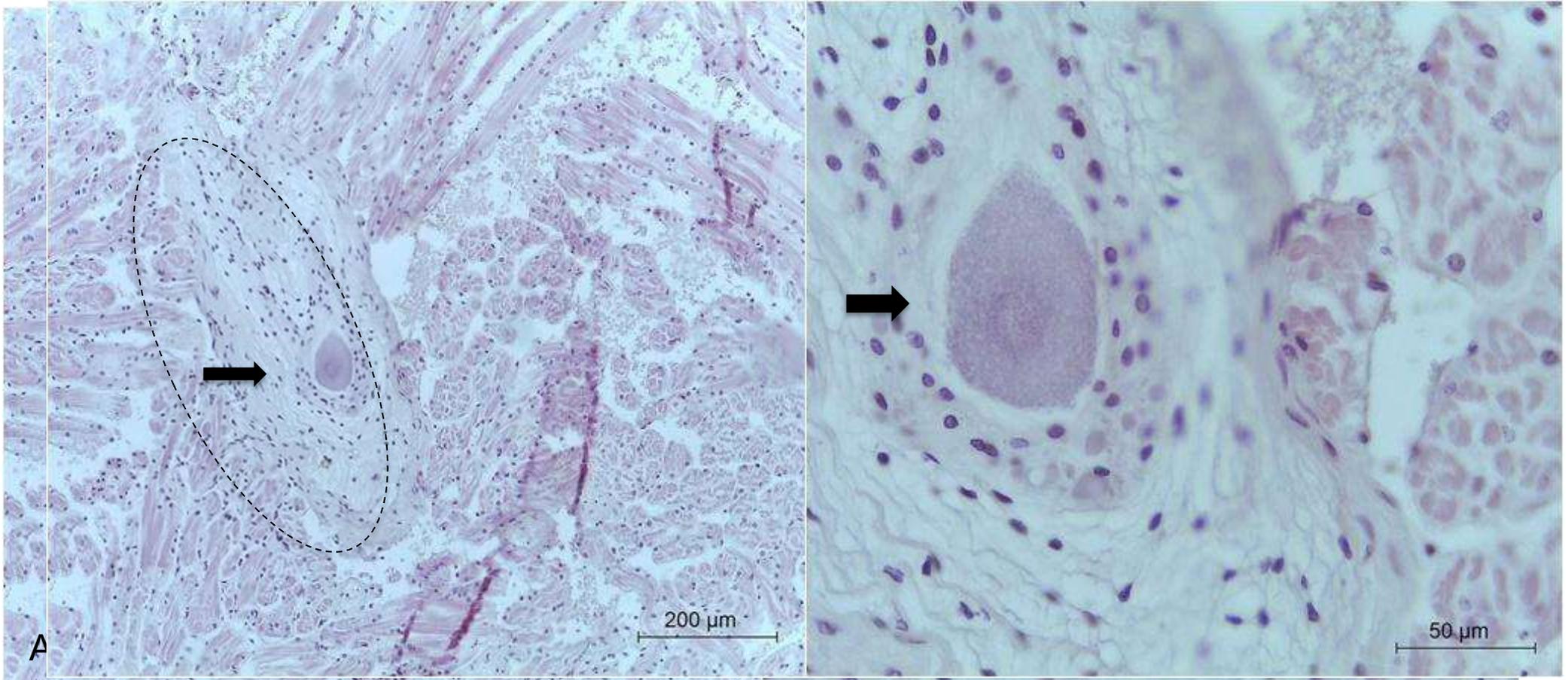
Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 23 – Fotomicrografia do músculo cardíaco de *Panulirus laevicauda*. M - Miofibrilas. G - Granulócito. H - Hemolinfa coagulada.



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 24 – Fotomicrografia de infiltração hemocítica (dentro do pontilhado) em volta de um fagócito (seta preta) observada no músculo cardíaco de *Panulirus laevicauda* (A). Aproximação do fagócito (seta preta) observado (B).



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

O coração é o órgão responsável pelo bombeamento da hemolinfa para todo o organismo. Lagostas apresentam sistema cardiovascular aberto ou semi aberto, visto que apresentam alguns vasos centrais responsáveis pela locomoção da hemolinfa (GOPEL & WIRKNER, 2020). O coração é composto pelo pericárdio e miocárdio (SHIELDS & BOYD, 2014).

O miocárdio representa a maior parte do coração, as fibras musculares cardíacas são caracterizadas por serem multinucleadas e estriadas. Pode ser encontrado no miocárdio a presença de células satélites, responsáveis pela regeneração do tecido cardíaco, sendo caracterizadas como células tronco (MARTIN & HOSE, 1995).

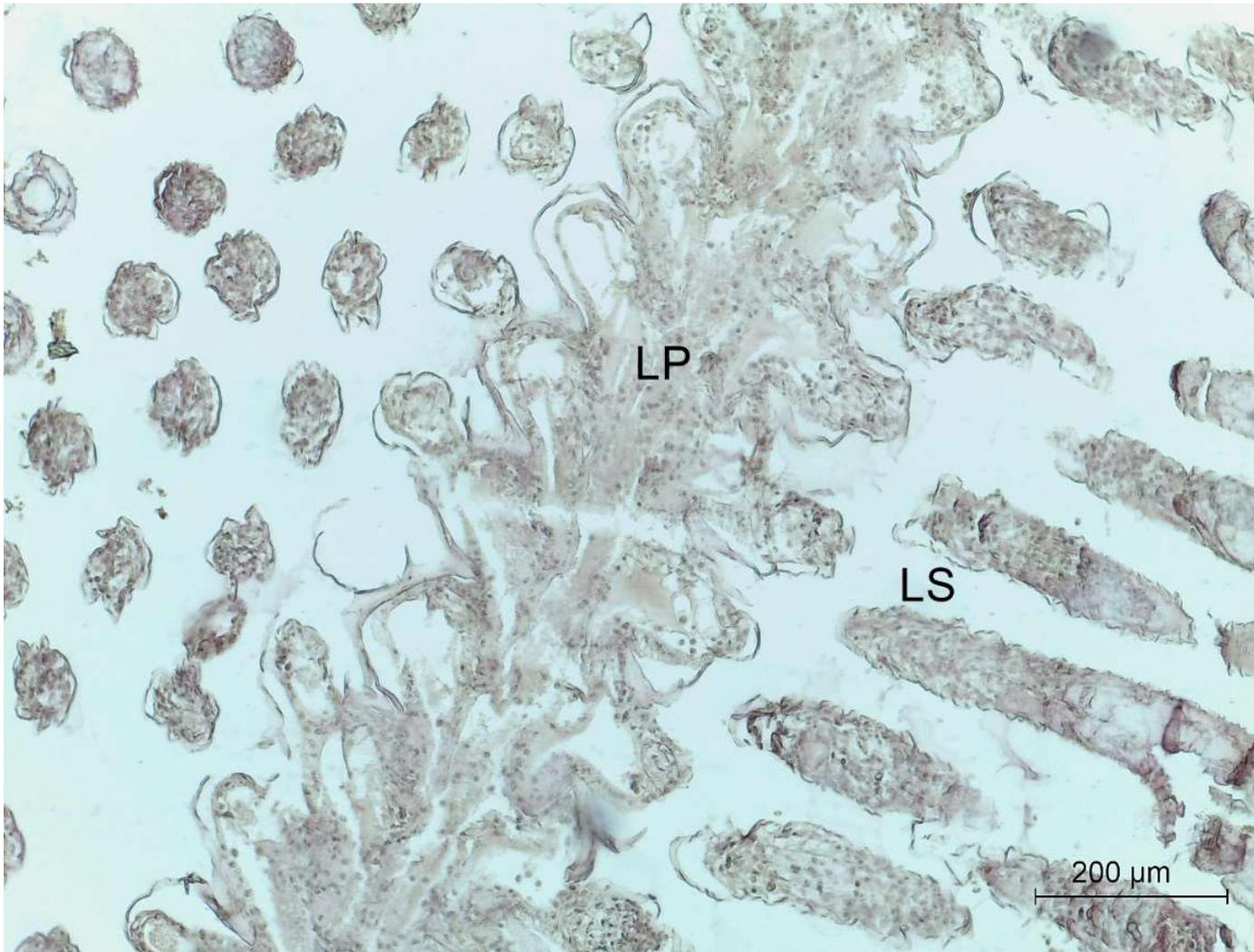
Algumas patologias podem ser identificadas através da observação de lâminas histológicas do coração, como miocardites e enfermidades provocadas por parasitas quando em alto grau de infestação. Na figura 23 podemos observar infiltração hemocítica em volta de um fagócito.

Wada *et al.* (1994) relatou várias lagostas com miocardites, necrose no músculo cardíaco e infiltração de hemócitos, no entanto, não foi encontrado a causa para tais anomalias. Alguns estudos relatam a presença de parasitas no músculo cardíaco, como microsporídios (KIRYU *et al.*, 2009; ATHERLEY *et al.* 2020).

6.1.5 Brânquias

As duas espécies apresentaram lâminas do tecido branquial com boa qualidade. As lâminas apresentaram cortes longitudinais e transversal da lamela, permitindo sua observação interna. Na figura 25, 26 e 27 podemos observar estas diferentes estruturas.

Figura 25 - Fotomicrografia da brânquia de *Panulirus argus*. LP - Lamela principal. LS - Lamela secundária.



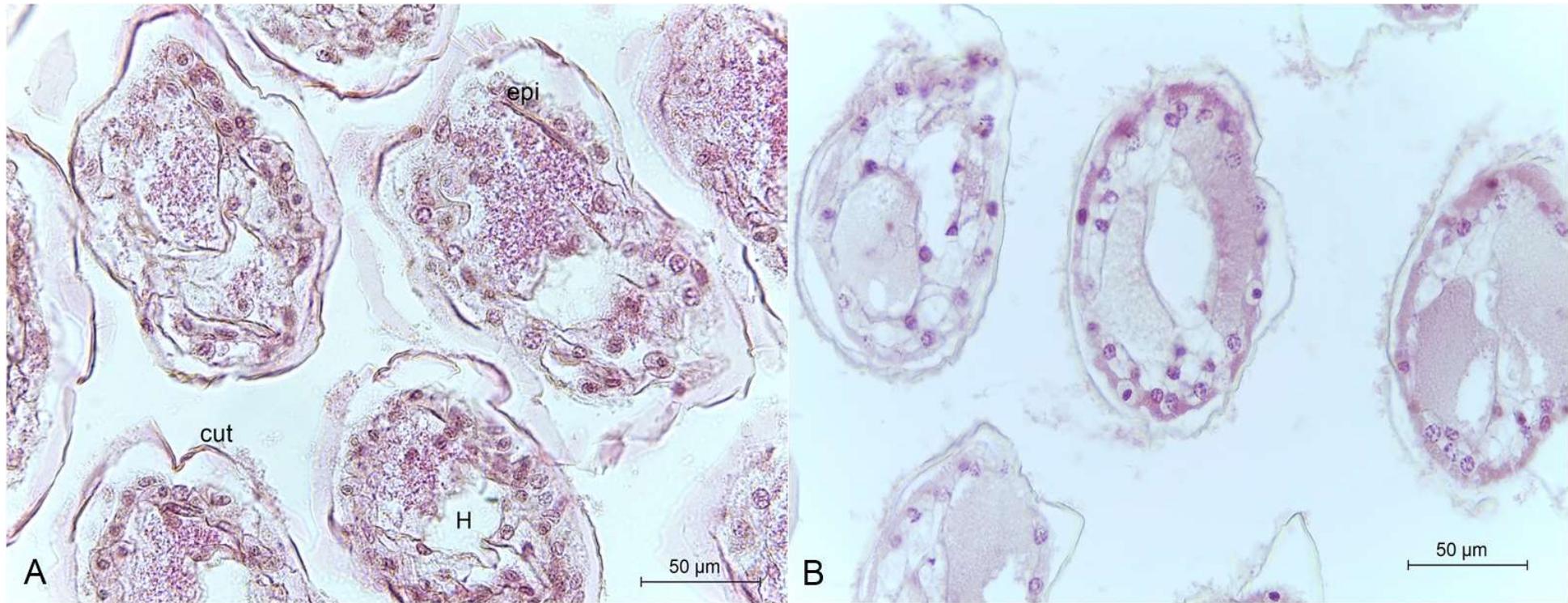
Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 26 - Fotomicrografia da brânquia de *Panulirus argus*. Setas pretas indicam canal branquial. Lam - lamelas.



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 27 - Fotomicrografia do corte transversal da lamela de *Panulirus argus* (A) e *Panulirus laevicauda* (B). cut - cutícula. epi - epiderme. H - seio hemal.



Fonte - Elaborada pelo autor, 2024.

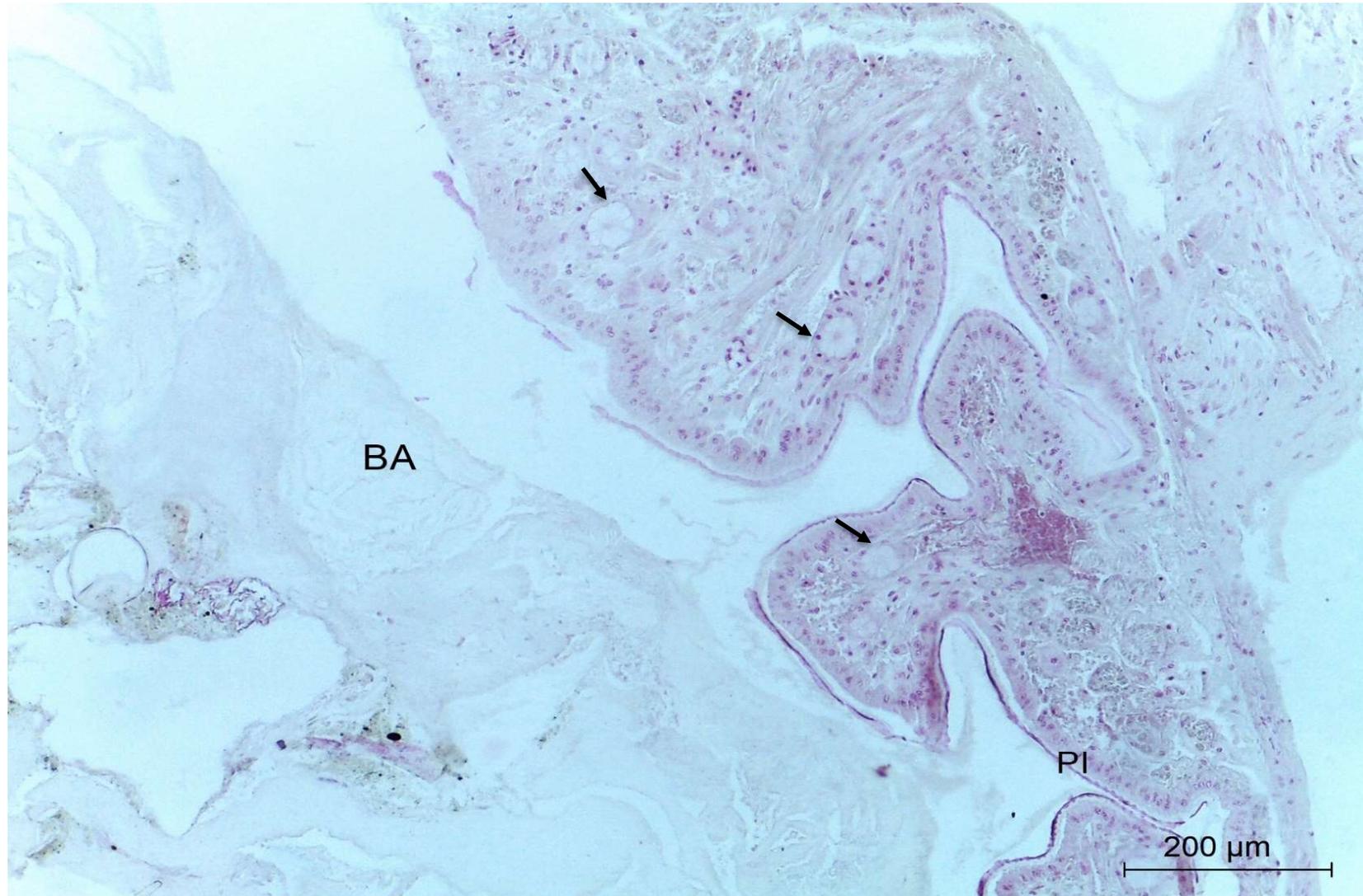
O tecido branquial é responsável pela respiração, regulação osmótica e trocas de nitrogenados (HENRY *et al.*, 2012). As brânquias são constituídas por arcos branquiais, ao qual se estendem os filamentos responsáveis pelo movimento da água entre suas lamelas branquiais. As lamelas realizam as trocas gasosas conforme a água flui entre elas, no sentido oposto da entrada de água é encontrado o fluxo de sangue, devido este arranjo, o sangue consegue absorver maior quantidade de oxigênio e outros solutos à medida que a água flui entre as lamelas, percorrendo o vaso sanguíneo e perdendo oxigênio por difusão (SCHMIDT-NIELSEN, 2002). As lamelas permitem as trocas gasosas, seja a incorporação de oxigênio na hemolinfa ou liberação de gases residuais como amônia (ROSS *et al.*, 2019).

As brânquias são responsáveis pela respiração, regulação iônica e osmótica na hemolinfa. Sendo o órgão com maior contato com o ambiente externo favorecendo sua infecção por parasitas, bactérias e fungos (ROSS, 2019). Atherley *et al.* (2020) encontrou brânquias necrosadas e as relacionou com a presença de cálculos na glândula antenal.

6.1.6 Intestino

O intestino foi coletado apenas da espécie *P. laevicauda*. Nesta foi possível a observação do bolo alimentar, parede intestinal e parasitas (figura 28 e 29).

Figura 28 – Fotomicrografia do intestino, podendo ser observado o bolo alimentar (BA), parede intestinal (PI) e alguns parasitas (seta preta).



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 29 – Fotomicrografia do intestino, com maior resolução, evidenciando a infecção por parasita (pontilhado).



Fonte – Elaborada pelo autor, 2024.

O intestino é responsável pela digestão, absorção, armazenamento e transporte de nutrientes ou outros compostos (MYKLES, 1979). Nas lâminas do intestino podemos observar a parede intestinal, composta por uma camada simples de células epiteliais cúbicas e colunares, responsáveis pela absorção de nutrientes. Estas células formavam microvilosidades, com formato em escova, permitindo maior superfície de contato com o bolo alimentar que passa pela região, auxiliando na maior absorção de nutrientes.

As lâminas histológicas que apresentaram parasitas foram provenientes de um exemplar de lagosta *P. laevicauda* coletada na Praia do Meireles, com característica aparentemente saudável, podendo ser observado alguns pontos levemente esbranquiçados na musculatura da cauda. Apesar dos pontos esbranquiçados identificados no músculo não foi identificada presença de parasitas nas lâminas deste órgão, no entanto, nas lâminas do intestino referentes ao mesmo indivíduo, pode ser identificado a presença de estruturas com formato globular, semelhante a esporos. Devido às características pontuais apresentadas no músculo da lagosta infectada podemos supor que se trate de uma infestação por microsporídios. Porém, recomenda-se que estudos moleculares sejam desenvolvidos para detecção correta do parasita.

Logo, estudos histológicos são essenciais para identificação e acompanhamento de enfermidades. Porém, pesquisas que abordem lagostas do gênero *Panulirus* são poucas principalmente materiais de referência a respeito de tecidos em situação normal, o que representa uma lacuna importante no conhecimento a respeito da biologia destes organismos (ROSS, 2019). Assim, se faz necessário que uma maior quantidade de estudos trate sobre a histologia clássica para o entendimento e preenchimento de lacunas.

A tabela 3 apresenta um compilado das características de cada órgão estudado, trazendo as características histológicas predominantes em organismos saudáveis, observadas neste estudo, e possíveis observações que espécimes infectados por alguma patologia possam vir a apresentar. Ressaltando, que neste estudo as anomalias observadas foram nas lâminas do coração com uma infiltração hemocítica e um fagócito, e no intestino com possíveis parasitas.

Tabela 3 - Característica histológica presente em órgãos saudáveis ou com presença de patologia.

Órgão	Característica Histológica de organismos saudáveis	Presença de patologia
Hepatopâncreas	Túbulos hepatopancreáticos definidos. Identificação das células B, R, F, E e M. Presença de reservas de inclusão, arteríolas e fagócitos fixos.	Patógenos são identificados, normalmente, no lúmen ou espaço hemal. Podendo gerar escamação dos túbulos. Ausência de reservas de inclusão e células B, ocasionando anemia e morte por exaustão. Grande concentração de fagócitos e infiltração hemocítica.
Glândula Antenal	Labirintos bem definidos e celomosaco.	Presença de patógenos no lúmen ou grânulos.
Músculo	Fibras musculares bem definidas.	Presença de patógenos e/ou cistos entre as fibras musculares, destruindo o sarcoplasma.
Coração	Presença de miocárdio, miofibrilas, reservas de inclusão, hemócito e tecido conjuntivo.	Patologias neste tecido pode ocasionar a presença de fagócitos, infiltração hemocítica e necrose.
Brânquias	Arcos branquiais e lamelas com cutícula definida.	Presença de patógenos fixados nas lamelas. Necrose.
Intestino	Parede intestinal com microvilosidades e camada celular simples.	Presença de patógenos no bolo alimentar e/ou musculatura intestinal.

Fonte – Elaborado pelo autor, 2024.

6.2 Imunologia

As características antropométricas (tamanho e peso) foram agrupadas na tabela 3 com as informações imunológicas (concentração proteica, profenoloxidase e hemaglutinação).

Tabela 4 - Resultados obtidos para concentração proteica, profenoloxidase e atividade hemaglutinante para as espécies *Panulirus laevicauda* e *Panulirus argus*.

Espécie	Amostra	Peso (g)	Cefalotórax (mm)	Concentração proteica (ng/mL)	proPO	Hemaglutinação	Concentração proteica (mg/mL)	Atividade hemaglutinante (HU)	Atividade específica (HU/mg)
<i>P. laevicauda</i>	1	435	79	270	22,21	10 ⁶	0,27	64	237,04
	2	288	72	210	8,17	10 ⁴	0,21	16	76,19
	3	473	87	283	51,67	-	0,283	-	-
	4	493	84	337	22,46	-	0,337	-	-
	5	389	74	277	18,71	-	0,277	-	-
	6	351	71	293	21,24	-	0,293	-	-
	7	474	79	223	24,42	10 ⁶	0,223	64	287,00
	8	337	73	191	9,26	-	0,191	-	-
	9	447	80	292	32,51	-	0,292	-	-
	10	420	80	303	39,91	-	0,303	-	-
<i>P. argus</i>	1	353	74	203	7,11	10 ⁵	0,203	32	157,64
	2	310	68	237	10,2	-	0,237	-	-
	3	360	73	339	5,64	10 ⁵	0,339	32	94,40
	4	571	86	297	6,94	-	0,297	-	-
	5	567	86	188	5,43	-	0,188	-	-
	6	403	76	324	11,62	-	0,324	-	-
	7	406	76	294	8,2	-	0,294	-	-
	8	618	92	347	8,69	-	0,347	-	-
	9	401	73	340	1,17	-	0,34	-	-
	10	395	76	276	4,49	10 ⁵	0,276	32	115,94

Fonte - Elaborado pelo autor, 2024.

Os resultados imunológicos mostraram que o menor indivíduo da lagosta *P. laevicauda* (72 mm de cefalotórax) apresentou os menores valores nos parâmetros avaliados (proPO, atividade hemaglutinante e atividade específica). Com base em estudos anteriores, podemos inferir que os níveis de expressão da fenoloxidase aumentam com a idade dos animais, como relatado em estudos com a ostra *Crassostrea gigas* e com *Artemia sinica*, onde os níveis de proPO cresceram junto aos estágios de desenvolvimento larval e juvenil (FAN *et al.*, 2011; THOMAS-GUYON *et al.*, 2009). Já Lourenço *et al.* (2005), trabalhando com outro organismo do táxon Artropoda, a abelha *Apis mellifera*, mostraram que o nível de expressão da fenoloxidase aumenta com o passar dos estágios de vida do animal, sendo maior em adultos e pupas velhas do que em pupas jovens e larvas.

Muitas outras proteínas plasmáticas que compõem a concentração total de proteínas da hemolinfa foram relatadas apresentando algum nível de oscilação em sua distribuição temporal de expressão, como a Dicer-1, FREP-like e penaeidinas, variando entre os diferentes estágios de desenvolvimento larval e fase adulta (COELHO *et al.*, 2016; YAO *et al.*, 2010; MUÑOZ *et al.*, 2003). Justificando assim o porquê de a menor concentração proteica total também ser atribuída ao indivíduo de menor comprimento. Esse menor nível de expressão de determinadas proteínas que desempenham um papel imunológico importante reflete em uma menor capacidade hemaglutinante e conseqüentemente uma menor atividade específica reiterando que indivíduos mais jovens possuem um sistema imunológico menos maduro e toleram menos o estresse (CNA, 2021).

De forma generalizada, podemos observar que as lagostas *P. argus* apresentaram valores inferiores aos observados para as da espécie *P. laevicauda*. Diferenças interespecíficas em relação ao conteúdo plasmático são esperadas, como exemplificado por Paterson, Davidson e Spanoghe (2001) para as espécies *Homarus americanus* e *Panulirus cygnus*. Por meio de curvas de calibração relacionando o conteúdo proteico pelo índice de refração (absorbância), verificou-se que lagostas da espécie *P. cygnus* sempre apresentam maior concentração proteica na hemolinfa, do que a *H. americanus*, em um mesmo índice de refração.

Outra justificativa para menores índices de proPO e atividade específica, embora a quantidade total de proteínas seja semelhante, está relacionada à metodologia de coleta. As lagostas *P. argus* sofreram um maior estresse de manejo até a sua devida amostragem, em comparação ao manuseio feito com a *P. laevicauda*. Quando as lagostas são expostas ao ar por um intervalo de tempo significativo, há o efeito da hipóxia e a conseqüente acidose da hemolinfa, resultante do lactato oriundo do metabolismo anaeróbico imposto pela falta de O₂, condições fisiológicas estas que impactam o animal

de forma quase que irreversível (FOTEDAR; EVANS, 2011). Pelo desequilíbrio químico da hemolinfa, os hemócitos acabam por se romper (menor contagem total de hemócitos) e as proteínas humorais se desnaturam, levando a lagosta a um estado de depressão imunológica (DOVE *et al.*, 2005).

Sánchez *et al.* (2001) relatam ainda uma diminuição na concentração proteica em camarões mantidos em temperaturas mais altas (de 27 a 31 °C). Essa observação leva a crer que o estresse de manejo não envolve apenas aspectos respiratórios e osmorregulatórios, mas também termorregulatórios, caso os animais sejam expostos à radiação solar durante sua captura e transporte. Em experimentos com o siri azul (*Callinectes sapidus*), constatou-se que a condição de hipóxia possibilita, não só os processos bioquímicos já mencionados, mas também o aumento da concentração de CO₂, favorecendo a perda da atividade da fenoloxidase, e funcionando como um mecanismo de retroalimentação de acidose do meio, tornando dispendioso o processo energético de recuperação da homeostase (TANNER *et al.*, 2006). Por isso, a avaliação da concentração total de proteínas na hemolinfa tem sido considerada como um dos principais parâmetros bioquímicos para a avaliação do estado de saúde em lagostas vivas (BOLTON *et al.*, 2009).

6.3 Molecular

A varredura que pretendia ser realizada para os vírus da Mancha Branca e Panulirus Argus Virus, assim como para o microsporídeo não foi bem sucedida. Foi realizada a extração de DNA de 100 amostras, submetidas a PCR do COI e 16S para verificação da integridade. Destas 50 amostras foram verificadas para o WSSV, sendo todas negativas. As análises de PCR para detecção do PaV1 e microsporídeo não apresentavam controle positivo que permitisse a validação do teste, sendo realizadas algumas tentativas que não obtiveram amplificação. Devido estes resultados não foi levada adiante as análises moleculares.

Apesar do gênero *Panulirus* compreender 42 espécies, apenas a espécie *Panulirus argus* possui estudos que abordam sua infecção viral com ocorrência natural. A lagosta *P. argus* apresenta distribuição geográfica no Atlântico Ocidental, sendo encontrada desde as Bermudas até o Rio de Janeiro, sustentando uma das pescarias economicamente mais importantes da região (Atherley *et al.*, 2020). O *Panulirus argus* virus (PaV1) considerado um vírus espécie-específico, por apresentar relatos de infecção apenas em lagostas da espécie *Panulirus argus*, foi encontrado apenas na Flórida, mar do Caribe e Golfo do México (Butler *et al.*, 2008). A prevalência de PaV1 em indivíduos juvenis pode variar entre 5% a 60% na Flórida (Behringer *et al.*, 2012) e entre 13,4 a

22,5% no México (Davies *et al.*, 2020). Ambientes recifais menores com presença de vegetação tendem a apresentar maior prevalência do vírus (Davies *et al.*, 2020). No entanto, a presença de refúgios artificiais ou “casitas” não foi considerado um fator que aumentasse a presença de indivíduos infectados (Briones-Fourzán *et al.*, 2012; Huchin-Mian *et al.*, 2013).

O PaV1 é mais pontual na região do Caribe e suas adjacências, no entanto não há trabalhos que abordem sua presença na América do Sul. A dispersão do vírus poderá ser tardia na América do Sul devido às correntes oceânicas ou pela fragilidade do capsídeo viral que se deteriora mais facilmente se presente fora do hospedeiro (Kough *et al.*, 2015). Além disso foi sugerido recentemente que as lagostas previamente identificadas como *P. argus* na América do Sul pertencem na realidade a uma outra espécie, *Panulirus meripurpuratus* (Giraldes & Smyth, 2016). Desta forma, o vírus PaV1 não infectaria esses organismos por ser um vírus espécie específico (Butler *et al.*, 2008).

Sabe-se que o confinamento de organismos aquáticos em altas densidades torna o ambiente propício para o desenvolvimento e disseminação de enfermidades, principalmente devido ao estresse crônico ao qual o animal é submetido e à facilidade de transmissão (Kibengen, 2016). Embora não haja cultivos expressivos de lagostas espinhosas ao redor do mundo, alguns estudos têm relatado que esses organismos podem ser susceptíveis à infecção por WSSV em condições de confinamento (Ross *et al.*, 2019).

Grande parte dos vírus que infectam crustáceos são conhecidos devido ao seu impacto na produção aquícola destes organismos. Logo, camarões e caranguejos são os invertebrados aquáticos que apresentam a maior quantidade de vírus identificados. A ausência do conhecimento completo da atuação destes vírus, como seu impacto na imunologia do hospedeiro e seu sequenciamento completo dificultam sua identificação, principalmente em organismos selvagens (Bateman & Stentiford, 2017). Normalmente, estudos sobre infecções em organismos aquáticos selvagens são realizados de forma pontual, através da abordagem de uma infecção já conhecida na aquicultura, ou precisam ser acompanhados de altas mortalidades na população natural (Kibengen, 2016). No entanto, hoje em dia não é necessário que grandes perdas econômicas aconteçam para que se possa conhecer os vírus de lagostas. Estudos com sequenciamento de nova geração (NGS) têm sido utilizados para analisar o viroma de organismos selvagens, abordando a descoberta da diversidade genética de vírus de DNA e RNA em diferentes espécies (Nkili-Meyong *et al.*, 2017). Por exemplo, a partir do estudo do viroma realizado no camarão *Crangon crangon* foi possível se encontrar 16 novos vírus de DNA e RNA que se distribuíam em diferentes tecidos (Eynde *et al.*, 2020). A disseminação desse tipo de técnica vem facilitando o sequenciamento de novos vírus, permitindo sua classificação e caracterização, o que, por sua vez, favorece a

identificação de patógenos antes de sua disseminação e antes mesmo da ocorrência de surtos no meio ambiente. Em um cenário ideal este conhecimento facilita a tomada de medidas que mitiguem seu impacto nas populações selvagens e cultivadas, evitando impacto ambiental e perdas econômicas (Mokili *et al.*, 2012).

7. CONCLUSÃO

O estudo apresentou características histológicas e imunológicas de duas espécies de lagostas amplamente comercializadas na indústria pesqueira, *P. laevicauda* e *P. argus*. Trazendo caracterização de seus tecidos saudáveis e dos principais parâmetros imunológicos, mostrando informações desconhecidas como a variação de seus parâmetros com o crescimento do indivíduo e a semelhança de seus tecidos entre si e com outros organismos pertencentes a mesma família.

Lâminas histológicas do intestino de organismos capturados na praia do Meireles demonstraram infecção por parasita, estes com características de *microsporidium*, no entanto, necessita de mais estudos para que seja identificado corretamente o agente patológico. O estudo histológico e imunológico das lagostas do gênero *Panulirus* é importante para entender sua fisiologia, avaliar o estado de saúde e nutrição.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que o aparecimento de organismos infectados em ambiente é utilizado como marcador ambiental ligado diretamente a resposta dos indivíduos junto a mudanças climáticas e fatores antropogênicos, recomenda-se que seja realizado um maior monitoramento do estado de saúde destas populações a fim de verificar os impactos que podem causar nos estoques pesqueiros.

Existem diversas lacunas de conhecimento a respeito de infecções virais em lagostas espinhosas, mostrando uma aparente negligência no estudo de patologias que afetam populações selvagens e estoques pesqueiros marinhos. As patologias de lagosta foram descritas há quase 20 anos e pouco se elucidou a respeito do motivo pelo qual o vírus *PaV1* afeta apenas lagostas da espécie *P. argus*, ou porque o WSSV não foi encontrado em lagostas no ambiente natural, até o momento. Além disso, nota-se a ausência de estudos que verifiquem a presença de enfermidades relacionada ao impacto da pesca sobre os estoques lagosteiros e que medidas podem ser tomadas para mitigar o efeito destes fatores nas populações selvagens.

REFERÊNCIAS

- AIKEN, D. E. Molting and growth. **The biology and management of lobsters**, v. 1, p. 91-163, 1980.
- ALENCAR, C. A. G. DE; TAVARES, L. DA S.; CINTRA, I. H. A. Current state of lobster exports in Brazil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e312985804, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i8.5804.
- ALMEIDA, L. P. D., SILVA, A. C. F., HOSTIM-SILVA, M., SANTANDER-NETO, J. Consequences of a new species and different stocks of Spiny Red Lobster in Brazil. **Biota Neotropica**, v. 21, p. e20201168, 2021.
- ATHERLEY, N. A. M., FREEMAN, M. A., DENNIS, M. M. Post-mortem examination of the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille 1804) and pathology in a fishery of the Lesser Antilles. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 175, 2020.
- BARRETO, A. D. V., SILVA, J. R., KATSURAGAWA, M., RAPOSO, M. C. Desenvolvimento dos ovários da lagosta *Panulirus echinatus* (Crustacea: Palinuridae) baseados nas análises macroscópica, microscópica e relação gonadossomática (RGS). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, p. 689-695, 2008.
- BELL T.A., LIGHTNER D.V. **A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology**. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 1988.
- BATEMAN K.S., STENTIFORD G.D. A taxonomic review of viruses infecting crustaceans with an emphasis on wild hosts. **Journal of Invertebrate Pathology** v. 147, p. 86–110, 2017.
- BEHRINGER, D. C.; BUTLER, M. J.; SHIELDS, J. D. Avoidance of disease by social lobsters. **Nature**, v. 441, n. 7092, p. 421-421, 2006.
- BEHRINGER D. C., BUTLER M. J., MOSS J., SHIELDS J. D. PaV1 infection in the Florida spiny lobster (*Panulirus argus*) fishery and its effects on trap function and disease transmission. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 69, p. 136–144, 2012.
- BOLTON, J. C., COLLINS, S., SMITH, R., PERKINS, B., BUSHWAY, R., BAYER, R., VETELINO, J. Spectroscopic analysis of hemolymph from the American lobster (*Homarus americanus*). **Journal of Shellfish Research**, v. 28, n. 4, p. 905-912, 2009.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- Brasil. *Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC*, 2020. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/base-de-dados-do-comercio-exterior-brasileiro-arquivos-para-download>. Acesso em: 22 abr. 2020.
- BRIONES-FOURZÁN, P., CANDIA-ZULBARÁN, R. I., NEGRETE-SOTO, F., BARRADAS-ORTIZ, C., HUCHIN-MIAN, J. P., LOZANO-ÁLVAREZ, E. Influence of local habitat features on disease avoidance by Caribbean spiny lobsters in a casita-enhanced bay. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 100, p.135–148, 2012.
- BRIONES-FOURZÁN, P.; LOZANO-ÁLVAREZ, E. Effects of artificial shelters (casitas)

on the abundance and biomass of juvenile spiny lobsters *Panulirus argus* in a habitat-limited tropical reef lagoon. **Marine Ecology Progress Series**, v. 221, p. 221-232, 2001.

BUTLER M. J., BEHRINGER D. C., SHIELDS J. D. Transmission of *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) and its effect on the survival of juvenile Caribbean spiny lobster. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.79, p. 173–182, 2008.

CAWTHORN R. J. Diseases of American lobsters (*Homarus americanus*): A review. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.106, p. 71–78, 2011.

CERENIUS, L.; SÖDERHÄLL, K. The prophenoloxidase - activating system in invertebrates. **Immunological reviews**, v. 198, n. 1, p. 116-126, 2004.

CHANG, P. S.; CHEN, H. C.; WANG, Y. Detection of white spot syndrome associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by in situ hybridization. **Aquaculture**, v. 164, n. 1-4, p. 233-242, 1998.

CHAVEZ-CROOKER, P., POZO, P., CASTRO, H., DICE, M. S., BOUTET, I., TANGUY, A., AHEARN, G. A. Cellular localization of calcium, heavy metals, and metallothionein in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 136, n. 3, p. 213-224, 2003.

CHOU, H.; HUANG, C.; WANG, C.; CHIANG, H.; LO, C. Patogenicidade de uma infecção por baculovírus que causa a síndrome da mancha branca em camarões peneídeos cultivados em Taiwan. **Disease of Aquatic Organisms**, v. 23, p. 165-173, 1995.

CLARK, A.S., BEHRINGER, D.C., SMALL, J.M., WALTZEK, T.B. Partial validation of a TaqMan real-time quantitative PCR assay for the detection of *Panulirus argus virus 1*. **Diseases of aquatic organisms**, v. 129, n. 3, p. 193-198, 2018.

COELHO R., J., BARRETO, C., DA SILVA SILVEIRA, A., VIEIRA, G. C., ROSA, R. D., PERAZZOLO, L. M. A hemocyte-expressed fibrinogen-related protein gene (LvFrep) from the shrimp *Litopenaeus vannamei*: expression analysis after microbial infection and during larval development. **Fish & shellfish immunology**, v. 56, p. 123-126, 2016.

CORNICK, J. W., STEWART, J. E. Lobster (*Homarus americanus*) hemocytes: classification, differential counts, and associated agglutinin activity. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 31, n. 2, p. 194-203, 1978.

CORNICK, J. W., STEWART, J. E. Partial characterization of a natural agglutinin in the hemolymph of the lobster, *Homarus americanus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 21, n. 3, p. 255–262, 1973. doi:10.1016/0022-2011(73)90210-3

DAVIES, C.E., BRIONES-FOURZÁN, P., BARRADAS-ORTIZ, C., NEGRETE-SOTO F., MOO-COCOM, G., LOZANO-ÁLVAREZ, E. Do ecological characteristics drive the prevalence of *Panulirus argus virus 1* (PaV1) in juvenile Caribbean spiny lobsters in a tropical reef lagoon? **PloS one**, v. 15, n. 2, p. e0229827, 2020.

GOEDKEN, M. J. **Immunomodulation of *Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica* cellular defense mechanisms by *Perkinsus marinus***. University of Connecticut, 2004.

DUARTE, L. F. A., SEVERINO-RODRIGUES, E., GASALLA, M. D. L. A. Contextualização da pesca mundial de lagostas e características de comercialização de *Scyllarides* spp. e *Panulirus* spp. na baixada santista, estado de São Paulo, Brasil.

Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 37, p. 235-246. 2011.

ESCRITÓRIO TÉCNICO DE ESTUDOS ECONÔMICOS DO NORDESTE (ETENE). XIMENES, LUCIANO FEIJÃO. Produção de pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro. **Caderno Setorial Etene**, n. 150, JAN, 2021.

FACTOR, J. R., NAAR, M. The digestive system of the lobster, *Homarus americanus*: II. Terminal hepatic arterioles of the digestive gland. **Journal of Morphology**, v. 206, n. 3, p. 283–291, 1990. doi:10.1002/jmor.1052060305

FACTOR, J. R. (Ed.). **Biology of the Lobster: *Homarus americanus***. Academic Press, 1995.

FAN, T., WANG, L., FAN, X., XU, B., YU, M., JIANG, G. A prophenoloxidase from *Artemia sinica*: cDNA cloning, expression and activity analysis during early development. **Fish & shellfish immunology**, v. 31, n. 6, p. 1059-1064, 2011.

FIELD, R. H., APPLETON, P. L. A Hematodinium-like dinoflagellate infection of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*: observations on pathology and progression of infection. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 22, n. 2, p. 115-128, 1995. doi:10.3354/dao022115

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

FLEGEL, T. W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. **Journal of Invertebrate Pathology**, p. 166-172, 2012.

FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R., VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates **Molecular Marine Biology Biotechnoly**, v. 3, p. 294-9, 1994.

FONTELES-FILHO, A. A. Population dynamics of spiny lobsters (Crustacea: Palinuridae) in Northeast Brazil. *Ciência e Cultura* **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, v. 44, n. 2/3, p. 191-196, 1992.

FONTELES-FILHO, A. A.; GUIMARÃES, M. S. S. Diagnóstico da situação econômica da indústria lagosteira no estado do Ceará. **Arquivo de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 33, n. 1-2, p. 5-15, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). **Globefish highlights: A quarterly update on world sea food markets**. Roma, outubro, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). **Fishstat: Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Branch**. Rome, Italy, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). **GLOBEFISH highlights January 2020 ISSUE, with Jan. – Sep. 2019 Statistics – A quarterly update on world seafood markets**. **Globefish Highlights**, Roma, n. 1–2020, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES (FAO). **GLOBEFISH Highlights 3rd issue 2021, with Jan.–Mar. 2021 Statistics – International Markets on Fisheries and Aquaculture Products. Quarterly update**. **Globefish Highlights** n. 3–2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb7153en>

FOTEDAR, S.; EVANS, L. Health management during handling and live transport of crustaceans: a review. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 106, n. 1, p. 143-152, 2011.

GÖPEL, T., WIRKNER, C. S. O sistema circulatório de *Penaeus vannamei* Boone, 1931 — Função lacunar e uma reconsideração do debate “sistema aberto versus sistema fechado”. **Journal of Morphology**, v. 281, n. 4-5, p. 500-512, 2020.
<https://doi.org/10.1002/jmor.21117>

HENRY, R. P., LUCU, Č., ONKEN, H., WEIHRAUCH, D. Multiple functions of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 431, 2012.

HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., GOLLAS-GALVÁN, T., GÓMEZ-JIMÉNEZ, S., PORTILLO-CLARK, G., VARGAS-ALBORES, F. In the spiny lobster (*Panulirus interruptus*) the prophenoloxidase is located in plasma not in haemocytes. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 14, n. 2, p. 105-114, 2003.

HERRERA-SALVATIERRA, N., PASCUAL-JIMÉNEZ, C., HUCHIN-MIAN, J.P., LOZANO-ALVAREZ, E., MONTERO-MUÑOZ, J., BRIONES-FOURZÁN, P., RODRÍGUEZ-CANUL, R. Nutritional and immunological evaluation of juvenile spiny lobsters *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Decapoda: Achelata: Palinuridae) naturally infected with the PaV1 virus. **Journal of Crustacean Biology**, v. 39, p. 162–171, 2019.

HOLTHUIS, L. B. **FAO SPECIES CATALOGUE** An Annotated and illustrated Catalogue of Species of Interest to Fisheries Known to Date. Fao Fisheries Synopsis, v. 13, n.125, 1991.

HUCHIN-MIAN JP, RODRÍGUEZ-CANUL R, BRIONES-FOURZÁN P, LOZANO-ÁLVAREZ E. *Panulirus argus virus 1* (PaV1) infection prevalence and risk factors in a Mexican lobster fishery employing casitas. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 107, p. 87–97, 2013.

KANCIRUK, P. Ecology of juvenile and adult Palinuridae (spiny lobsters). **The biology and management of lobsters**, v. 2, p. 59-96, 1980.

ITOH, N., KUBOYAMA, A., FREEMAN, M. A., KATATA, M., YAMAKAWA, T., & YOSHINAGA, T. A novel dimorphic microsporidian *Ameson iseebi* sp. nov. infecting muscle of the Japanese spiny lobster, *Panulirus japonicus*, in western Japan. **Journal of invertebrate pathology**, 176, 107472, 2020.

JIMÉNEZ, C. P., HUCHIN-MIAN, J. P., SIMÕES, N., BRIONES-FOURZÁN, P., LOZANO-ÁLVAREZ, E., ARTEAGA, A. S., PEREZ-VEGA, J. A., ALVAREZ, S. A. RODRÍGUEZ-CANUL, R. Physiological and immunological characterization of Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus* naturally infected with *Panulirus argus Virus 1* (PaV1). **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 100, n. 2, p. 113-124, 2012.

KIBENGE, F. S. B. Determinants of Emergence of Viral Diseases in Aquaculture. **Aquaculture virology**, p. 95-116, 2016.

KIRYU, Y., BEHRINGER, D. C., LANDSBERG, J. H., PETTY, B. D. Microsporidiosis in the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* from southeast Florida, USA. **Diseases of aquatic organisms**, v. 84, n. 3, p. 237-242, 2009.

LI, C., SHIELDS, J. D., RATZLAFF, R. E., BUTLER, M. J. Pathology and hematology of the Caribbean spiny lobster experimentally infected with *Panulirus argus virus 1* (PaV1).

Virus research, v. 132, n. 1-2, p. 104-113, 2008.

KOESHARYANI, I.; GARDENIA, L.; LASMIKA, N. L. A. Molecular detection and cloning for rickettsia-like bacteria of milky haemolymph disease of spiny lobster *Panulirus* spp. **Indonesian Aquaculture Journal**, v. 11, n. 2, p. 81-86, 2017.

KOUGH, A. S. PARIS, C. B., BEHRINGER, D. C., BUTLER IV, M. J. Modelling the spread and connectivity of waterborne marine pathogens: the case of PaV1 in the Caribbean. **ICES Journal of Marine Science**, v. 72, n. suppl_1, p. i139-i146, 2015.

LATREILLE, P. A. Langouste, *Palinurus*, Fab. **Nouveau Dictionnaire d 'Histoire naturelle**, v. 17, p. 291-295, 1817.

LEE, S. Y.; SÖDERHÄLL, K. Early events in crustacean innate immunity. **Fish & shellfish immunology**, v. 12, n. 5, p. 421-437, 2002.

LIGHTNER, D.V. **Handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp**. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 1996.

LO, C. F., LEU, J. H., HO, C. H., CHEN, C. H., PENG, S. E., CHEN, Y. T., KOU, G. H. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 25, n. 1-2, p. 133-141, 1996.

LOURENÇO, A. P., ZUFELATO, M. S., BITONDI, M. M. G., SIMÕES, Z. L. P. Molecular characterization of a cDNA encoding prophenoloxidase and its expression in *Apis mellifera*. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 35, n. 6, p. 541-552, 2005.

MARDER, E.; BUCHER, D. Understanding circuit dynamics using the stomatogastric nervous system of lobsters and crabs. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 69, p. 291-316, 2007.

MARTIN, G. G., HOSE, J. E. **Circulation, the blood, and disease. Biology of the Lobster Homarus americanus**, Academic Press, 465-495, 1995.

MIZUTA, S., YOSHINAKA, R., SATO, M., SAKAGUCHI, M. Characterization of collagen in the muscle of several crustacean species in association with raw meat texture. **Fisheries science**, 60(3), 323-328, 1994.

MONTGOMERY-FULLERTON, M. M., COOPER, R. A., KAUFFMAN, K. M., SHIELDS, J. D., RATZLAFF, R. E. Detection of *Panulirus argus* Virus 1 in Caribbean spiny lobsters. **Diseases of aquatic organisms**, v. 76, n. 1, p. 1-6, 2007.

MORALES, V., & CUÉLLAR-ANJEL, J. **Patología e inmunología de camarones peneidos**. Programa Iberoamericano CYTED. Rep. de Panamá, 2008.

MOSS, J., BEHRINGER, D., SHIELDS, J. D., BAEZA, A., AGUILAR-PERERA, A., BUSH, P. G., BUTLER, M. J. Distribution, prevalence, and genetic analysis of *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) from the Caribbean Sea. **Disease of Aquatic Organisms**, v.104, p. 129-140, 2013. <https://doi.org/10.3354/dao02589>

MOTA-ALVES, M.I., G.S. TOMÉ. Estudo sobre as gônadas da lagosta *Panulirus argus* (Latreille). **Arquivo Estudo de Biologia Marinha** 5 (1): 15-26, 1965

MUÑOZ, M., VANDENBULCKE, F., GUEGUEN, Y., BACHÈRE, E. Expression of penaeidin antimicrobial peptides in early larval stages of the shrimp *Penaeus vannamei*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 27, n. 4, p. 283-289, 2003.

MUSTHAQ, S., SUDHAKARAN, R., BALASUBRAMANIAN, G., SAHUL HAMEED, A.S. Experimental transmission and tissue tropism of white spot syndrome virus (WSSV) in two species of lobsters, *Panulirus homarus* and *Panulirus ornatus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 93, p. 75-80, 2006.

NKILI-MEYONG, A.A., BIGARRÉ, L., LABOUBA, I., VALLAEYS, T., AVARRE, J.C., BERTHET, N. Contribution of Next-Generation Sequencing to Aquatic and Fish Virology. **Intervirology**, v. 59, p. 285-300, 2017.

PALUMBI, S.R. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: **Molecular Systematics**. Sinauer Associates, Sunderland, p. 205-247, 1996.

PATERSON, B. D.; DAVIDSON, G. W.; SPANOGHE, P. T. Physiological studies of stress and morbidity during postharvest handling of western rock lobsters (*Panulirus cygnus*), I. **Physiological stress indicators. Final report of Project**, n. 96, p. 345, 2001.

PERDOMO-MORALES, R. MONTERO-ALEJO, V., PERERA, E., PARDO-RUIZ, Z., ALONSO-JIMÉNEZ, E. Phenoloxidase activity in the hemolymph of the spiny lobster *Panulirus argus*. **Fish & shellfish immunology**, v. 23, n. 6, p. 1187-1195, 2007.

PETROPOULOS, I. S. Peripheral modulation of cardiac contractions in the American lobster, *Homarus americanus*, by the peptide myosuppressin is mediated by effects on the cardiac muscle itself. 2023. 62 f. Tese (Honors Project) – Bowdoin College, 2023.

PHILLIPS, Bruce (Ed.). **Lobsters: biology, management, aquaculture and fisheries**. John Wiley & Sons, 2008.

PLAGÁNYI, É., DENG, RA, TONKS, M., MURPHY, N., PASCOE, S., EDGAR, S., DUTRA, L Indirect Impacts of COVID-19 on a Tropical Lobster Fishery's Harvest Strategy and Supply Chain. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, p. 730, 2021.

PLAGÁNYI, É. E., MCGARVEY, R., GARDNER, C., CAPUTI, N., DENNIS, D., DE LESTANG, S., VILLANUEVA, C. Overview, opportunities and outlook for Australian spiny lobster fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 28, n. 1, p. 57-87, 2018.

PORTER, L.; BUTLER IV, M.; REEVES, R. H. Normal bacterial flora of the spiny lobster *Panulirus argus* and its possible role in shell disease. **Marine and Freshwater Research**, v. 52, n. 8, p. 1401-1405, 2001.

RAJENDRAN, K. V., VIJAYAN, K. K., SANTIAGO, T. C., KROL, R. M. Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. **Journal of fish diseases**, v. 22, n. 3, p. 183-191, 1999.

RIBEIRO, S. S. Conectividade ecológica no Oceano Atlântico Tropical por meio de modelagem numérica. 2017. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

ROSS, E. P., BEHRINGER, D. C., MUÑOZ, A., DÍAZ, D., BOJKO, J. A histological atlas for the Palinuridae (Crustacea: Decapoda: Achelata): A guide to parasite discovery and spotting the abnormal in spiny lobsters. **Journal of invertebrate pathology**, v. 163, p. 21-33, 2019.

SALAZAR, I. S. O. Avaliação do crescimento, reprodução e exploração do estoque das

lagostas espinhosas no Nordeste do Brasil. 2020. 125 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais). Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., & MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold spring harbor laboratory press, 1989.

SÁNCHEZ, A., PASCUAL, C., SÁNCHEZ, A., VARGAS-ALBORES, F., LE MOULLAC, G., ROSAS, C. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. **Aquaculture**, v. 198, n. 1-2, p. 13-28, 2001.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. 5 ed. São Paulo: Livraria Santos, 2002, 611 p.

SHIELDS, J. D., & BEHRINGER JR, D. C. A new pathogenic virus in the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* from the Florida Keys. **Diseases of aquatic organisms**, v. 59, n. 2, p. 109-118, 2004.

SHIELDS, J. D.; BOYD, R. A. **Atlas of lobster anatomy and histology**. 2014.

SHIELDS, J. D. Diseases of spiny lobsters: A review. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 106, n. 1, p. 79–91, 2011.

SILVA, A. C.; FONTELES-FILHO, A. A. **Avaliação do defeso aplicado a pesca da lagosta no nordeste do Brasil**. Editora Expressão Gráfica, Fortaleza, 2011.

SIMPSON, L. A.; AMBROSIO, L. J.; BAEZA, J. A. A new species of Carcinonemertes, *Carcinonemertes conanobrieni* sp. nov. (Nemertea: Carcinonemertidae), an egg predator of the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0177021, 2017.

SMALL, H. J., STENTIFORD, G. D., BEHRINGER, D. C., FREEMAN, M. A., ATHERLEY, N. A. M., REECE, K. S., SHIELDS, J. D. Characterization of microsporidian *Ameson herrnkindi* sp. nov. infecting Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 136, n. 3, p. 209-218, 2019.

SMOLOWITZ, R.; CHISTOSERDOV, A. Y.; HSU, A. A description of the pathology of epizootic shell disease in the American lobster, *Homarus americanus*, H. Milne Edwards 1837. **Journal of Shellfish Research**, v. 24, n. 3, p. 749-756, 2005.
[https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2005\)24\[749:ADOTPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2005)24[749:ADOTPO]2.0.CO;2)

SÖDERHÄLL, K.; HÄLL, L. Lipopolysaccharide-induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish haemocyte lysate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 797, n. 1, p. 99-104, 1984.

STENTIFORD, G. D.; DUNN, A. M. Microsporidia in aquatic invertebrates. **Microsporidia: Pathogens of Opportunity**, p. 579-604, 2014.

STENTIFORD, G. D., FEIST, S. W., STONE, D. M., BATEMAN, K. S., & DUNN, A. M. Microsporidia: diverse, dynamic, and emergent pathogens in aquatic systems. **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 11, p. 567- 578, 2013. doi:10.1016/j.pt.2013.08.005

STENTIFORD, G. D., BATEMAN, K. S., SMALL, H. J., MOSS, J., SHIELDS, J. D., REECE, K. S., TUCK, I. *Myospora metanephrops* (n. g., n. sp.) from marine lobsters and a proposal for erection of a new order and family (Crustaceacida; Myosporidae) in the Class Marinosporidia (Phylum Microsporidia). **International Journal for**

Parasitology, v. 40, n. 12, p. 1433–1446, 2010. DOI:10.1016/j.ijpara.2010.04.017

ŠTRUS, J., ŽNIDARŠIČ, N., MRAK, P., BOGATAJ, U., VOGT, G. Structure, function and development of the digestive system in malacostracan crustaceans and adaptation to different lifestyles. **Cell and tissue research**, v. 377, p. 415-443, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03056-0>

SUBRAMANIAM, K., BEHRINGER, D. C., BOJKO, J., YUTIN, N., CLARK, A. S., BATEMAN, K. S., AERLE, R. V., BASS, D., KERR, R. C., KOONIN, E. V., STENTIFORD, G. D., WALTZEK, T. B. A new family of DNA viruses causing disease in crustaceans from diverse aquatic biomes. **MBio**, v. 11, n. 1, p. e02938-19, 2020.

TANNER, C. A.; BURNETT, L. E.; BURNETT, K. G. The effects of hypoxia and pH on phenoloxidase activity in the Atlantic blue crab, *Callinectes sapidus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 144, n. 2, p. 218-223, 2006. DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.02.042

THOMAS-GUYON, H., GAGNAIRE, B., BADO-NILLES, A., BOUILLY, K., LAPÈGUE, S., RENAULT, T. Detection of phenoloxidase activity in early stages of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Developmental & Comparative Immunology**, v. 33, n. 5, p. 653-659, 2009. DOI: 10.1016/j.dci.2008.11.011.

TOURINHO, J.L., SOLÉ-CAVA, A.M., LAZOSKI, C. Cryptic species within the commercially most important lobster in the tropical Atlantic, the spiny lobster *Panulirus argus*. **Marine Biology** 159, 1897–1906, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-1977-7>

VERBRUGGEN B., BICKLEY L.K., VAN AERLE R., BATEMAN K.S., STENTIFORD G.D., SANTOS E.M., TYLER C.R. Molecular mechanisms of white spot syndrome virus infection and perspectives on treatments. **Viruses**, v.8, p. 1–29, 2016.

ZHU, X., WITTNER, M., TANOWITZ, H. B., CALI, A., WEISS, L. M. Nucleotide sequence of the small subunit rRNA of *Ameson michaelis*. **Nucleic acids research**, v. 21, n. 16, p. 3895, 1993.

WADA, S., TAKAYAMA, A., HATAI, K., SHIMA, Y., FUSHIMI, H. A pathological study on cardiac disease found in spiny lobsters. **Fisheries science**, v. 60, n. 2, p. 129-131, 1994.

WANG, Y. C., LO, C. F., CHANG, P. S., KOU, G. H. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. **Aquaculture**, v. 164, n. 1-4, p. 221-231, 1998.

WHITE, E. R., FROEHLICH, H. E., GEPHART, J. A., COTTRELL, R. S., BRANCH, T. A., BEJARANO, R. A. Early effects of COVID-19 interventions on US fisheries and seafood. **Fish Fisheries**, v. 22, p. 232–239, 2021. doi: 10.1111/faf.12525

YAO, X., WANG, L., SONG, L., ZHANG, H., DONG, C., ZHANG, Y., BI, Y. A Dicer-1 gene from white shrimp *Litopenaeus vannamei*: expression pattern in the processes of immune response and larval development. **Fish & shellfish immunology**, v. 29, n. 4, p. 565-570, 2010. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.05.016.

Anexo

ENFERMIDADES VIRAIS EM LAGOSTAS DO GÊNERO *Panulirus*: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Viral diseases in lobsters of the genus *Panulirus*: a systematic review

Ingrid Luana da Silveira Siqueira^{1,6}; Thays Andrade^{2,6}; Rafael dos Santos Rocha^{3,6}; Juliana de Carvalho Gaeta⁴; Rodrigo Maggioni^{5,6}

¹ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, bolsista da Capes. ingrid_luanah@hotmail.com

² Graduanda em Oceanografia, Universidade Federal do Ceará, bolsista de Iniciação Científica CNPq. thaysandrade@alu.ufc.br

³ Técnico do Laboratório do CEDECAM, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará: rafaelsanro@ufc.br

⁴ Pesquisadora de Inovação Tecnológica da Secretaria do Desenvolvimento Econômico e Trabalho. Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fortaleza, CE, Brasil. jugaeta@gmail.com

⁵ Professor do Curso de Oceanografia Universidade Federal do Ceará (UFC). maggioni@ufc.br

⁶ Centro de Diagnóstico de Organismos Aquáticos (CEDECAM), Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

RESUMO

Lagostas do gênero *Panulirus* são um importante recurso para a pesca mundial. No entanto, como todos os crustáceos marinhos, são acometidas por uma variedade de enfermidades causadas por vírus, bactérias e parasitas. O impacto das enfermidades sobre a disponibilidade desse recurso pesqueiro ainda é pouco estudado e é possível que seja magnificado pelas mudanças climáticas globais em curso. Esta revisão sistemática abordou as patologias virais que infectam lagostas do gênero *Panulirus*, tendo como objetivo compilar as informações acerca dos sinais clínicos dessas enfermidades, suas características nos tecidos dos animais infectados e as metodologias empregadas para o seu estudo. Até o momento, apenas um vírus específico de lagostas do gênero *Panulirus* foi identificado e descrito, o *Panulirus argus* vírus (*PaV1*). Além dele, já foi registrado nas lagostas espinhosas o vírus da mancha branca (WSSV), que causa uma enfermidade grave em camarões marinhos.

Palavras-chave: Palinuridae, WSSV, *PaV1*, crustáceos.

ABSTRACT

Lobsters of the Panulirus genus are an important resource for world fisheries. However, like all marine crustaceans, they are affected by a variety of diseases caused by viruses, bacteria and parasites. The impact of diseases on the availability of this fishery resource is still poorly studied, and it is possible that it is magnified by the ongoing global climate changes. This systematic review addressed the viral pathologies that infect lobsters of the genus Panulirus, aiming to compile information about the clinical signs of these diseases, their characteristics in the tissues of infected animals and the methodologies used for their study. So far, only one lobster virus, specific to Panulirus genus, has been identified and described, the Panulirus argus virus (PaV1). In addition to that, the White spot virus (WSSV), which causes a serious disease in marine shrimp, has already been recorded in spiny lobsters.

Keywords: *Palinuridae, WSSV, PaV1, crustaceans.*

INTRODUÇÃO

O declínio na produção de lagosta tem sido registrado em todo o mundo, podendo ser observado um decréscimo de 13,6% das exportações mundiais em 2019 (FAO, 2020). Com o aumento das mudanças climáticas e dos impactos antropogênicos, estima-se que o número de doenças que acometem organismos marinhos aumente (Marcogliese, 2008). Consequentemente, o efeito das doenças infecciosas sobre a ecologia populacional dos recursos pesqueiros poderá se intensificar nos próximos anos, com consequências sobre o manejo da pesca desses recursos (Cawthorn, 2011).

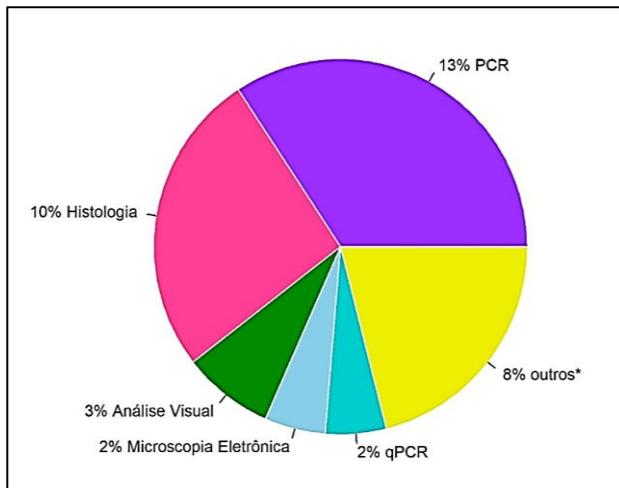
Lagostas podem ser acometidas por enfermidades de origem bacteriana, viral, fúngica e de protozoários (Shields, 2011). Os vírus de maior relevância em lagostas espinhosas são o *Panulirus argus* vírus (*PaV1*), encontrado na lagosta *P. argus*, e o vírus da síndrome da mancha branca (WSSV), que afeta o camarão marinho. O *PaV1* causa uma enfermidade que demonstrou ser letal para juvenis de lagosta em sistemas de aquicultura experimental. Além disso, o vírus já foi detectado em populações selvagens com ocorrência na América do Norte e no Caribe (Shields, 2011). Já o WSSV foi identificado em lagostas de diferentes espécies do gênero *Panulirus*, porém apenas em ambiente de cultivo e induzidas de modo experimental (Shields, 2011). Esse vírus tem como reservatório um grande número de espécies de invertebrados e causa uma enfermidade grave em camarões marinhos, gerando grandes prejuízos econômicos em sistemas de cultivo (Flegel, 2012).

O presente trabalho trata de uma revisão sistemática a respeito das patologias virais que infectam lagostas do gênero *Panulirus*, tendo como objetivo compilar as informações acerca dos sinais clínicos dessas enfermidades, suas características nos tecidos dos animais infectados e as metodologias empregadas para o seu estudo.

METODOLOGIA

Através da metodologia PICO (População, Intervenção, Comparação e Desfecho) (Santos; Pimenta & Nobre, 2007), foram criadas duas perguntas que guiaram o desenvolvimento deste trabalho: 1) quais vírus infectam lagostas do gênero *Panulirus*? e 2) quais sinais clínicos essas enfermidades apresentam? A redação da revisão utilizou as diretrizes de 2009 do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (Moher *et al.*, 2009).

Figura 2 – Métodos de diagnóstico utilizados para detecção de PaV1



Os sinais clínicos do vírus PaV1 facilitam a identificação em campo de organismos enfermos, tendo na hemolinfa leitosa e carapaça com coloração avermelhada as características-chave para identificação, o que facilita a coleta de amostras (Shields, 2011). Para o WSSV, até o momento, não houve relato de lagostas infectadas em seu *habitat* natural. No entanto, organismos infectados em laboratório apresentaram letargia, coloração escura na região dorsal, redução da natação e baixo consumo alimentar (Musthaq *et al.*, 2006).

Quadro 1 – Artigos que abordam a ocorrência de enfermidades causadas por vírus em lagostas do gênero *Panulirus* obtidos após revisão sistemática

Ano	Autores	Espécie	Local	Enfermidade	Transmissão	Sinais clínicos	Método de detecção
1998	Chang, Chen e Wang, 1998	<i>Panulirus versicolor</i> <i>Panulirus penicillatus</i>	Costa de Pintung, sul de Taiwan	WSSV	Infecção oral	Sem sinais clínicos evidentes	Hibridização <i>in situ</i> e PCR
1998	Wang <i>et al.</i> , 1998	<i>Panulirus ornatus</i> <i>Panulirus versicolor</i> <i>Panulirus longipes</i> <i>Panulirus penicillatus</i>	Costa de Pintung, sul de Taiwan	WSSV	Infecção oral	Sem sinais clínicos evidentes	PCR
1999	Rajendran <i>et al.</i> , 1999	<i>Panulirus ornatus</i> , <i>Panulirus homarus</i> <i>Panulirus polyphagus</i>	Índia	WSSV	Injeção intramuscular e infecção oral	Sem sinais clínicos	Histologia e Microscopia eletrônica
2004	Shields e Behringer, 2004	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	PaV1	Natural	Animais moribundos	Histologia e Microscopia eletrônica
2006	Li <i>et al.</i> , 2006	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	PaV1	Natural	Sem sinais clínicos	Histologia, PCR, Microscopia eletrônica, Hibridização <i>in situ</i>
2006	Musthaq <i>et al.</i> , 2006	<i>Panulirus homarus</i> <i>Panulirus ornatus</i>	Índia	WSSV	Injeção intramuscular e infecção oral	Letargia, baixa alimentação, coloração escura na região dorsal, redução da natação e baixos movimentos	PCR, Western blot e Histologia
2008	Butler, Behringer e Shields, 2008	<i>Panulirus argus</i> <i>Panulirus guttatus</i>	Flórida, USA	PaV1	Inóculo	Sem sinais clínicos	Histologia
2008	Li <i>et al.</i> , 2008	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	PaV1	Natural	Hemolinfa leitosa, descoloração avermelhada sobre as marcas claras da carapaça	Histologia, Hematologia e Análise bioquímica
2009	Huchin-Mian <i>et al.</i> , 2013	<i>Panulirus argus</i>	México	PaV1	Natural	Sem sinais clínicos	PCR
2011	Quintana, Canul e Martínez, 2011	<i>Panulirus argus</i>	Cuba	PaV1	Natural	Hemolinfa leitosa, visível entre o cefalotórax e abdômen. Coloração avermelhada no exoesqueleto	PCR e Histologia
2012	Behringer <i>et al.</i> , 2012	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	PaV1	Natural	Sem sinais clínicos	PCR

(continuação Quadro 1)

Ano	Autores	Espécie	Local	Enfermidade	Transmissão	Sinais clínicos	Método de detecção
2012	Briones-Fourzán <i>et al.</i> , 2012	<i>Panulirus argus</i>	Ascencion, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, visível entre o cefalotórax e abdômen. Coloração avermelhada no exoesqueleto	Visual
2012	Pascual-Jiménez <i>et al.</i> , 2012	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, descoloração avermelhada sobre as marcas claras da carapaça	Análise visual, PCR, Histologia e Parâmetros imunológicos
2012	Moss <i>et al.</i> , 2012	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	<i>PaV1</i>	Inóculo	Sem sinais clínicos	PCR
2013	Huchin-Mian <i>et al.</i> , 2013	<i>Panulirus argus</i>	Baía da Ascencion, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, descoloração avermelhada sobre as marcas claras da carapaça	Análise visual e PCR
2015	Lozano-Álvarez <i>et al.</i> , 2015	<i>Panulirus argus</i>	Península de Yucatan, México	<i>PaV1</i>	Natural	Sem sinais clínicos	PCR
2018	Clark <i>et al.</i> , 2018	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	<i>PaV1</i>	Natural		PCR
2019	Candia-Zulbarán, Briones-Fourzán e Lozano-Álvarez, 2019	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, descoloração avermelhada sobre as marcas claras da carapaça	PCR
2019	Herrera-Salvatierra <i>et al.</i> , 2019	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, descoloração avermelhada sobre as marcas claras da carapaça	PCR, Histologia, Imunológico e nutricional
2019	Ross, Behringer e Bojko, 2019	<i>Panulirus argus</i>	Flórida, USA	WSSV	Induzida - Injeção intramuscular	Sem sinais clínicos	Histologia e PCR
2020	Davies <i>et al.</i> , 2020	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa, visível entre o cefalotórax e abdômen	PCR
2020	Zamora-Briseño <i>et al.</i> , 2020b	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa e carapaça avermelhada	Proteômica, Histologia e qPCR
2020	Zamora-Briseño <i>et al.</i> , 2020a	<i>Panulirus argus</i>	Puerto Morelos Reef National Park, México	<i>PaV1</i>	Natural	Hemolinfa leitosa e carapaça avermelhada	qPCR, Histologia e Microbiota intestinal

PaV1

O *PaV1* é um vírus pertencente à nova família Mininucleoviridae, recentemente proposta, devido ao seu genoma pequeno de 70.886 pb (Genbank access. MN604017) e formato icosaédrico (Subramaniam *et al.*, 2020). Sua infecção pode ser observada em células do tecido conjuntivo, hialinócitos e semigranulócitos (Shields & Behringer, 2004). Sua prevalência é maior em juvenis de lagostas (Butler; Behringer & Shields, 2008), e organismos infectados tendem a ser evitados pelo restante da população, uma vez que mecanismos de quimiorrecepção parecem permitir a identificação de organismos enfermos pelos seus pares (Anderson & Behringer, 2013). Esse comportamento dificulta a dispersão do vírus na natureza (Behringer *et al.*, 2012).

A forma mais viável de dispersão do vírus seria através da circulação oceânica ou por pós-larvas infectadas. No entanto, a presença de portais (*gateways*), locais que permitiram a disseminação do vírus mais rápida para outros ambientes, principalmente devido a sua localização ser próxima a grandes correntes, pode ter facilitado a propagação do patógeno, permitindo sua disseminação mais rápida em localidades onde levariam um período maior para acontecer, como a costa oeste de Cuba e o nordeste do México (Kough *et al.*, 2015).

Em lâminas histológicas de hepatopâncreas de lagostas infectadas com *PaV1*, podem-se observar aumento no espaço entre os túbulos hepatopancreáticos e distorção do seio hemal, sendo a mortalidade devido à exaustão e anemia (Shields & Behringer, 2004; Li *et al.*, 2008). Células com alto grau de infecção apresentaram eosinofilia, inclusões de Cowdry tipo A, núcleos picnóticos e ausência de reserva de inclusão (Shields & Behringer, 2004). A infecção por *PaV1* no hepatopâncreas, hemócitos e seio hemal foi classificada quanto ao grau severidade (Shields & Behringer, 2004; Li *et al.*, 2008). O grau 0 (zero) identifica indivíduo saudável ou sem infecção, o grau 1 (um) equivale a levemente infectado, o grau 2 (dois) identifica indivíduos moderadamente infectados e o grau 3 (três) indica indivíduos fortemente infectados (Quadro 2).

WSSV

A síndrome da mancha branca é considerada uma das enfermidades de maior impacto econômico na produção mundial de camarão marinho (Flegel *et al.*, 2008). Essa patologia foi detectada inicialmente no leste da Ásia entre os anos de 1992 e 1993 (Flegel, 2012), vindo, posteriormente, a se dispersar por todos os continentes, causando significativas perdas econômicas no setor da carcinicultura (Verbruggen *et al.*, 2016). O seu agente etiológico, o WSSV, pertence ao gênero *Whispovirus* e à família Nimaviridae, na qual é o único representante. Apresenta DNA fita dupla circular e um dos maiores genomas conhecidos entre os vírus, com aproximadamente 300 kbp (Verbruggen *et al.*, 2016). A detecção do WSSV é bem estabelecida e pode ser realizada por diferentes métodos de diagnóstico, como PCR em tempo real, PCR convencional, histologia, hibridação *in situ* e testes rápidos (Dey *et al.*, 2020).

Não foram registradas, até o momento, ocorrências de WSSV em lagostas selvagens do gênero *Panulirus*. No entanto, análises histológicas de lagostas infectadas experimentalmente com WSSV mostraram células degeneradas com inclusões intranucleares e basofilia em tecidos de origem ectodérmica e mesodérmica (Mustaq *et al.*, 2006; Rajendran *et al.*, 1999). As brânquias foram o tecido no qual foi observada maior infecção pelo WSSV e o maior número de alterações celulares (Wang *et al.*, 1998; Chang; Chen & Wang, 1998; Rajendran *et al.*, 1999; Mustaq *et al.*, 2006). Observou-se também hipertrofia acentuada em hemócitos localizados nas lamelas branquiais e no intestino (Rajendran *et al.*, 1999).

Quadro 2 – Características do grau de infecção do *Panulirus argus* vírus 1 em lagostas do gênero *Panulirus*

Severidade (grau)	Características do diagnóstico molecular e histopatológico
Saudável (0)	PCR negativa Observação de tecidos saudáveis nas lâminas histológicas
Levemente (1) a moderadamente (2) infectado	PCR positiva Ausência de Cowdry A Presença de fagócitos fixos infectados Células infectadas no hepatopâncreas (1-100/por seção) Infiltração hemocítica Obstrução do seio hemal
Altamente infectado (4)	PCR positiva Hipertrofia nuclear Cromatina condensada Túbulos do hepatopâncreas atrofiados Granulomas Células infectadas (acima de 100 por seção) Presença de células infectadas em volta do tecido conjuntivo

DISCUSSÃO

Apesar de o gênero *Panulirus* compreender 42 espécies, apenas a espécie *Panulirus argus* possui estudos que abordam sua infecção viral com ocorrência natural (Atherley; Freeman & Dennis, 2020). A lagosta *P. argus* apresenta distribuição geográfica da Carolina do Norte até a Venezuela e sustenta uma das pescarias economicamente mais importantes da região (Giraldes & Smith, 2016). O *Panulirus argus* vírus (*PaV1*), que é considerado um vírus espécie-específico, por apresentar relatos de infecção apenas em lagostas da espécie *Panulirus argus*, foi encontrado apenas na Flórida, no mar do Caribe e Golfo do México (Butler; Behringer & Shields, 2008). A prevalência de *PaV1* em indivíduos juvenis pode variar entre 5% e 60% na Flórida (Behringer *et al.*, 2012) e entre 13,4% e 22,5% no México (Davies *et al.*, 2020). Ambientes recifais menores com presença de vegetação tendem a apresentar maior prevalência do vírus (Davies *et al.*, 2020). No entanto, a presença de refúgios artificiais ou “casitas” não foi considerado um fator que aumentasse a presença de indivíduos infectados (Briones-Fourzán *et al.*, 2012; Huchin-Mian *et al.*, 2013).

O *PaV1* é mais pontual na região do Caribe e suas adjacências. No entanto, não há trabalhos que abordem sua presença na América do Sul. A dispersão do vírus poderá ser tardia na América do Sul devido às correntes oceânicas ou pela fragilidade do capsídeo viral que se deteriora mais facilmente se presente fora do hospedeiro (Kough *et al.*, 2015). Além disso, foi sugerido recentemente que as lagostas previamente identificadas como *P. argus* na América do Sul pertencem na realidade a uma outra espécie, a *Panulirus meripurpuratus* (Giraldes & Smyth, 2016). Dessa forma, o vírus *PaV1* não infectaria esses organismos por ser um vírus espécie-específico (Butler; Behringer & Shields, 2008).

Sabe-se que o confinamento de organismos aquáticos em altas densidades torna o ambiente propício para o desenvolvimento e a disseminação de enfermidades, principalmente devido ao estresse crônico ao qual o animal é submetido e à facilidade de transmissão (Kibengen, 2016). Embora não haja cultivos expressivos de lagostas espinhosas ao redor do mundo, alguns estudos têm relatado que esses organismos podem ser susceptíveis à infecção por WSSV em condições de confinamento (Ross; Behringer & Bojko, 2019).

A presente revisão revela diversas lacunas de conhecimento a respeito de infecções virais em lagostas espinhosas. Há uma aparente negligência no estudo de patologias que afetam populações selvagens e estoques pesqueiros marinhos. As patologias de lagosta foram descritas há quase 20 anos e pouco se elucidou a respeito do motivo pelo qual o vírus *PaV1* afeta apenas lagostas da espécie *P. argus*, ou porque o WSSV não foi encontrado em lagostas no ambiente natural até o momento. Além disso, nota-se a ausência de estudos que verifiquem a presença de enfermidades relacionadas ao impacto da pesca sobre os estoques lagosteiros e quais medidas podem ser tomadas para mitigar o efeito desses fatores nas populações selvagens (Shields, 2009). A maior susceptibilidade de organismos juvenis pode se dar devido ao sistema imune mais frágil quando comparado ao indivíduo adulto, principalmente devido às suas sucessivas mudas (Behringer *et al.*, 2012), tornando o indivíduo mais susceptível aos vírus presentes no ambiente. Dessa forma, medidas de manejo devem ser utilizadas como estratégias para conservação e manutenção dos habitats costeiros a fim de permitir com que pós-larvas (puerulus) e juvenis de lagostas possam prosperar e contribuir para a reposição e manutenção dos estoques pesqueiros.

Grande parte dos vírus que infectam crustáceos é conhecida devido ao seu impacto na produção aquícola desses organismos. Logo, camarões e caranguejos são os invertebrados aquáticos que apresentam a maior quantidade de vírus identificados. A ausência do conhecimento completo da atuação desses vírus, como seu impacto na imunologia do hospedeiro, e seu sequenciamento completo dificultam sua identificação, principalmente em organismos selvagens (Bateman & Stentiford, 2017). Normalmente, estudos sobre infecções em organismos aquáticos selvagens são realizados de forma pontual, através da abordagem de uma infecção já conhecida na aquicultura, ou precisam ser acompanhados de altas mortalidades na população natural (Kibengen, 2016). No entanto, hoje em dia não é necessário que grandes perdas econômicas aconteçam para que se possa conhecer os vírus de lagostas. Estudos com

sequenciamento de nova geração (NGS) têm sido utilizados para analisar o viroma de organismos selvagens, abordando a descoberta da diversidade genética de vírus de DNA e RNA em diferentes espécies (Nkili-Meyong et al., 2017). Por exemplo, a partir do estudo do viroma realizado no camarão *Crangon crangon* foi possível identificar 16 novos vírus de DNA e RNA que se distribuíam em diferentes tecidos (Eynde et al., 2020). A disseminação desse tipo de técnica vem facilitando o sequenciamento de novos vírus, permitindo sua classificação e caracterização, o que, por sua vez, favorece a identificação de patógenos antes de sua disseminação e antes mesmo da ocorrência de surtos no meio ambiente. Em um cenário ideal, esse conhecimento facilita a tomada de medidas que mitiguem seu impacto nas populações selvagens e cultivadas, evitando impacto ambiental e perdas econômicas (Mokili; Rohwer & Dutilh, 2012).

CONCLUSÃO

Esta revisão procurou abordar os sinais clínicos das enfermidades transmitidas por vírus que infectam lagostas do gênero *Panulirus*, com destaque para PaV1 e WSSV, buscando evidenciar suas características nos tecidos dos animais infectados. A compilação dessas informações permitirá maior agilidade na detecção dessas enfermidades nas lagostas espinhosas da costa brasileira. A revisão ressaltou também o pouco que se sabe sobre patologias virais desse importante recurso pesqueiro do Nordeste brasileiro. Finalmente, identificou-se como potencial linha de pesquisa a exploração do viroma dessas espécies, uma vez que já dispomos do conhecimento e da infraestrutura necessários para o estudo de vírus emergentes, o que tem estado em evidência especialmente em face do estado de emergência sanitária que se instalou no Brasil a partir de março de 2020, causado pelo SARS-Cov2.

REFERÊNCIAS

- Anderson, J.R. & Behringer, D.C. Spatial dynamics in the social lobster *Panulirus argus* in response to diseased conspecifics. *Marine Ecology Progress Series*, v. 474, p. 191-200, 2013.
- Aria, M. & Cuccurullo, C. Bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of informetrics*, v. 11, n. 4, p. 959-975, 2017.
- Atherley, N.A.M.; Freeman, M.A. & Dennis, M.M. Post-mortem examination of the Caribbean spiny lobster (*Panulirus argus*, Latreille 1804) and pathology in a fishery of the Lesser Antilles. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 175, 2020.
- Bateman, K.S. & Stentiford, G.D. A taxonomic review of viruses infecting crustaceans with an emphasis on wild hosts. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 147, p. 86-110, 2017.
- Behringer, D.C.; Butler, I.V.M.J.; Moss, J. & Shields, J.D. PaV1 infection in the Florida spiny lobster (*Panulirus argus*) fishery and its effects on trap function and disease transmission. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 69, p. 136-144, 2012.
- Briones-Fourzán, P.; Candia-Zulbarán, R.I.; Negrete-Soto, F.; Barradas-Ortiz C.; Huchin-Mian, J.P. & Lozano-Álvarez, E. Influence of local habitat features on disease avoidance by Caribbean spiny lobsters in a casita-enhanced bay. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 100, p. 135-148, 2012.
- Butler, M.J.; Behringer, D.C. & Shields, J.D. Transmission of *Panulirus argus virus 1* (PaV1) and its effect on the survival of juvenile Caribbean spiny lobster. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 79, p. 173-182, 2008.
- Candia-Zulbarán, R.I.; Briones-Fourzán, P. & Lozano-Álvarez, E. Confirming validity measures of visual assessment of PaV1 infection in Caribbean spiny lobsters. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 137, p. 47-51, 2019.

- Cawthorn, R.J. Diseases of American lobsters (*Homarus americanus*): a review. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 106, p. 71-78, 2011.
- Chang, P.S.; Chen, H.C. & Wang, Y.C. Detection of white spot syndrome associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by in situ hybridization. *Aquaculture*, v. 164, n. 1-4, p. 233-242, 1998.
- Clark, A.S.; Behringer, D.C.; Small, J.M. & Waltzek, T.B. Partial validation of a TaqMan real-time quantitative PCR assay for the detection of *Panulirus argus* virus 1. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 129, p. 193-198, 2018.
- Davies, C.E.; Briones-Fourzán, P.; Barradas-Ortiz, C.; Negrete-Soto, F.; Moo-Cocom, G. & Lozano-Álvarez, E. Do ecological characteristics drive the prevalence of *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) in juvenile Caribbean spiny lobsters in a tropical reef lagoon? *PloS One*, v. 15, p. e0229827, 2020.
- Dey, B.K.; Dugassa, G.H.; Hinzano, S.M. & Bossier, P. Causative agent, diagnosis and management of White spot disease in shrimp: a review. *Reviews in Aquaculture*, v. 12, n. 2, p. 822-865, 2020.
- Eynde, B. van; Christiaens, O.; Delbare, D.; Shi, C.; Vanhulle, E.; Yinda, C.K.; Matthijssens, J. & Smagghe, G. Exploration of the virome of the European brown shrimp (*Crangon crangon*). *Journal of General Virology*, v. 101, p. 651-666, 2020.
- Food and Agriculture Organization of the United States (FAO). GLOBEFISH highlights January 2020 ISSUE, with Jan. – Sep. 2019 Statistics – A quarterly update on world seafood markets. *Globefish Highlights*, Roma, n. 1-2020, 2020.
- Flegel, T.W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology*, n. 110, p. 166-173, 2012.
- Flegel, T.W.; Lightner, D.V.; Lo Chu, F. & Owens, L. Shrimp disease control: past, present and future. *Diseases in Asian Aquaculture VI*, p. 355-378, 2008.
- Giraldes, B.W. & Smyth, D.M. Recognizing *Panulirus meripurpuratus* sp. nov. (Decapoda: Palinuridae) in Brazil - Systematic and biogeographic overview of panulirus species in the Atlantic ocean. *Zootaxa*, v. 4107, n. 3, p. 353-366, 2016.
- Herrera-Salvatierra, N.; Pascual-Jiménez, C.; Huchin-Mian, J.P.; Lozano-Alvarez, E.; Montero-Muñoz, J.; Briones-Fourzán, P. & Rodríguez-Canul, R. Nutritional and immunological evaluation of juvenile spiny lobsters *Panulirus argus* (Latreille, 1804) (Decapoda: Achelata: Palinuridae) naturally infected with the PaV1 virus. *Journal of Crustacean Biology*, n. 39, p. 162-171, 2019.
- Huchin-Mian, J.P.; Rodríguez-Canul, R.; Briones-Fourzán, P. & Lozano-Álvarez, E. *Panulirus argus* virus 1 (PaV1) infection prevalence and risk factors in a Mexican lobster fishery employing casitas. *Diseases of Aquatic Organisms*, n. 107, p. 87-97, 2013.
- Jiménez, C.P.; Huchin-Mian, J.P.; Simões, N.; Briones-Fourzán, P.; Lozano-Álvarez, E.; Arteaga, A.S. & Rodríguez-Canul, R. Physiological and immunological characterization of Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus* naturally infected with *Panulirus argus* Virus 1 (PaV1). *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 2, n. 100, p. 113-124, 2012.
- Kibenge, F.S.B. Determinants of emergence of viral diseases in aquaculture, p. 95-116, in Kibenge, F.S. & Godoy, M. *Aquaculture virology*. Academic Press, 2016.
- Kough, A.S.; Paris, C.B.; Behringer, D.C. & Butler, M.J. Modelling the spread and connectivity of waterborne marine pathogens: the case of PaV1 in the Caribbean. In *ICES Journal of Marine Science*. Oxford University Press, p. i139-i146, 2015.

- Li, C.; Shields, J.D.; Ratzlaff, R.E. & Butler, M.J. Pathology and hematology of the Caribbean spiny lobster experimentally infected with *Panulirus argus virus 1 (PaV1)*. *Virus Research*, v. 132, p. 104-113, 2008.
- Li, C.; Shields, J.D.; Small, H.J.; Reece, K.S.; Hartwig, C.L.; Cooper, R.A. & Ratzlaff, R.E. Detection of *Panulirus argus Virus 1 (PaV1)* in the Caribbean spiny lobster using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Diseases of Aquatic Organisms*, n. 72, v. 3, p. 185-192, 2006.
- Lozano-Álvarez, E.; Briones-Fourzán, P.; Huchin-Mian, J.P.; Segura-García, I.; Ek-Huchim, J.P.; Améndola-Pimenta, M. & Rodríguez-Canul, R. *Panulirus argus virus 1* detected in oceanic postlarvae of Caribbean spiny lobster: implications for disease dispersal. *Diseases of Aquatic Organisms*, n. 117, p. 165-170, 2015.
- Marcogliese, D.J. The impact of climate change on the parasites and infectious diseases of aquatic animals. *Rev. Sci. Tech.*, n. 27, v. 2, p. 467-484, 2008.
- Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G.; Altman, D.; Antes, G.; Atkins, D.; Barbour, V.; Barrowman, N.; Berlin, J.A.; Clark, J.; Clarke, M.; Cook, D.; D'Amico, R.; Deeks, J.J.; Devereaux, P.J.; Dickersin, K.; Egger, M.; Ernst, E.; Gøtzsche, P.C.; Grimshaw, J.; Guyatt, G.; Higgins, J.; Ioannidis, J.P.A.; Kleijnen, J.; Lang, T.; Magrini, N.; McNamee, D.; Moja, L.; Mulrow, C.; Napoli, M.; Oxman, A.; Pham, B.; Rennie, D.; Sampson, M.; Schulz, K.F.; Shekelle, P.G.; Tovey, D. & Tugwell, P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Medicine*, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.
- Mokili, J.L.; Rohwer, F. & Dutilh, B.E. Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Current Opinion in Virology*, n. 2, p. 63-77, 2012.
- Moss, S.M.; Moss, D.R.; Arce, S.M.; Lightner, D. & Lotz, J.M. The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. *Journal of Invertebrate Pathology*, n. 110, p. 247-250, 2012.
- Musthaq, S.; Sudhakaran, R.; Balasubramanian, G. & Sahul Hameed, A.S. Experimental transmission and tissue tropism of White spot syndrome virus (WSSV) in two species of lobsters, *Panulirus homarus* and *Panulirus ornatus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, n. 93, p. 75-80, 2006.
- Nkili-Meyong, A.A.; Bigarré, L.; Labouba, I.; Vallaeys, T.; Avarre, J.C. & Berthet, N. Contribution of next-generation sequencing to aquatic and fish virology. *Intervirology*, n. 59, p. 285-300, 2017.
- Pascual-Jiménez, C.; Huchin-Mian, J.P.; Simões, N.; Briones-Fourzán, P.; Lozano-Álvarez, E.; Sánchez-Arteaga, A.; Pérez-Vega, J.A.; Simá-Álvarez, R.; Rosas Vazquez, C. & Rodríguez-Canul, R. Physiological and immunological characterization of Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus* naturally infected with *Panulirus argus Virus 1 (PaV1)*. *Diseases of Aquatic Organisms*, n. 100, p. 113-124, 2012.
- Quintana, Y.C.; Canul, R.R. & Martínez, V.M.V. First evidence of *Panulirus argus Virus 1 (PaV1)* in spiny lobster from Cuba and clinical estimation of its prevalence. *Diseases of Aquatic Organisms*, n. 93, p. 141-147, 2011.
- Rajendran, K.V.; Vijayan, K.K.; Santiago, T.C. & Krol, R.M. Experimental host range and histopathology of White spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *Journal of Fish Diseases*, v. 3, n. 22, p. 183-191, 1999.
- R Core Team. R: a language and environment for statistical computing v. 3.6. 1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019). *Scientific Reports*, v. 11, p. 12957, 2021.
- Ross, E.P.; Behringer, D.C. & Bojko, J. White spot syndrome virus and the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*: susceptibility and behavioral immunity. *Journal of Invertebrate Pathology*, n. 162, p. 1-9, 2019.

- Santos, C.M.D.C.; Pimenta, C.A.D.M. & Nobre, M.R.C. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, n. 15, p. 508-511, 2007.
- Shields, J.D. & Behringer Jr., D.C. A new pathogenic virus in the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* from the Florida Keys. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 2, n. 59, p. 109-118, 2004.
- Shields, J.D. A review of the impact of diseases on crab and lobster fisheries. *In* Bilateral Conference between Russia and the United States, 3., 2009, *Proceedings* [...]. 2009. p. 12-20.
- Shields, J.D. Diseases of spiny lobsters: A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, n. 106, p. 79-91, 2011.
- Subramaniam, K.; Behringer, D.C.; Bojko, J.; Yutin, N.; Clark, A.S.; Bateman, K.S.; van Aerle, R.; Bass, D.; Kerr, R.C.; Koonin, E.; Stentiford, G.D. & Waltzek, T.B. A new family of DNA viruses causing disease in crustaceans from diverse aquatic biomes. *MBio*, v. 11, n. 1, p. e02938-19, 2020.
- Verbruggen, B.; Bickley, L.K.; van Aerle, R.; Bateman, K.S.; Stentiford, G.D.; Santos, E.M. & Tyler, C.R. Molecular mechanisms of *White spot syndrome virus* infection and perspectives on treatments. *Viruses*, n. 8, p. 1-29, 2016.
- Wang, Y.C.; Lo, C.F.; Chang, P.S. & Kou, G.H. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. *Aquaculture*, n. 164, p. 221-231, 1998.
- Zamora-Briseño, J.A.; Cerqueda-García, D.; Hernández-Velázquez, I.M.; Rivera-Bustamante, R.; Huchín-Mian, J.P.; Briones-Fourzán, P.; Lozano-Álvarez, E. & Rodríguez-Canul, R. Alterations in the gut-associated microbiota of juvenile Caribbean spiny lobsters *Panulirus argus* (Latreille, 1804) infected with *PaV1*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 176, p. 107457, 2020a.
- Zamora-Briseño, J.A.; Ruiz-May, E.; Elizalde-Contreras, J.M.; Hernández-Velázquez, I.M.; Hernández-Pérez, A.; Fuentes-García, A.G.; Herrera-Salvatierra, N.; Briones-Fourzán, P.; Pascual-Jiménez, C.; Lozano-Álvarez, E. & Rodríguez-Canul, R. ITRAQ-Based Proteomic Profile Analysis of the Hepatopancreas of Caribbean Spiny Lobsters Infected with *Panulirus argus* Virus 1: Metabolic and Physiological Implications. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, 2020b.