

Verônica Arns da Silva

ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA MIONECROSE INFECCIOSA
VIRAL (IMNV) NO CAMARÃO CULTIVADO, *Litopenaeus vannamei*, EM
PERNAMBUCO, BRASIL.

Recife
2007

Verônica Arns da Silva

ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA MIONECROSE INFECCIOSA
VIRAL (IMNV) NO CAMARÃO CULTIVADO, *Litopenaeus vannamei*, EM
PERNAMBUCO, BRASIL.

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura** da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de **Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura**.

Orientadora: **Prof^{sa} Dr^a Emiko Shinozaki Mendes**,
Depto. de Medicina Veterinária, da UFRPE.

Recife
2007

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

Parecer da comissão examinadora da defesa de dissertação de mestrado de

Verônica Arns da Silva

ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA MIONECROSE INFECCIOSA
VIRAL (IMNV) NO CAMARÃO CULTIVADO, *Litopenaeus vannamei*, EM
PERNAMBUCO, BRASIL.

Área de concentração: **Aqüicultura**

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro,
considera a candidata **Verônica Arns da Silva** como aprovada.

Recife, 22 de Fevereiro de 2007

Prof^a. Dr^a Emiko Shinozaki Mendes (DSc, UFRPE)
Orientadora

Dr^a Alitiane Moura Lemos Pereira
(DSc, EMBRAPA)
Membro externo

Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos (DSc, UFRPE)
Membro externo

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes (DSc, UFRPE)
Membro interno

DEDICATÓRIA

A **Deus**, pai de infinito amor e bondade, pela sua presença constante em minha vida;

A minha mãe, **Walburga Arns da Silva**, por todo o amor, incentivo e dedicação, sempre ao meu lado com sua ternura e por ser meu referencial.

Ao meu pai, **José Paulino da Silva**, por todo o amor, prestatividade e por sempre me fazer sorrir nos momentos mais difíceis.

Ao meu noivo, **Daniel Vivas da Silveira**, por todo o amor, respeito, companheirismo, sempre me fazendo acreditar que amanhã será um belo dia.

Ao meu irmão, **Thiago Paulino da Silva**, por todo carinho e amizade.

A todos meus familiares, amigos, professores que sempre acreditaram em mim e sempre me deram força nos momentos mais difíceis. Espero encontrar melhor forma e melhor momento para dizer a todos o quanto sou agradecida por mais uma etapa vencida.

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, fica expressa aqui a minha gratidão, especialmente:

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Departamento de Pesca e Aqüicultura, Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, pelos conhecimentos na área da aqüicultura;

Ao Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, no Departamento de Medicina Veterinária pela realização das análises laboratoriais;

Ao Laboratório de Oceanografia Pesqueira, no Departamento de Pesca e Aqüicultura pelo uso do micrótomo no final do experimento;

Ao CNPq pelo fornecimento da bolsa de pesquisa e a FINEP pelo auxílio financeiro ao projeto de pesquisa, através do programa RECARCINE;

A Professora Dr^a. Emiko Shinozaki Mendes, por toda orientação, incentivo, dedicação, profissionalismo e compromisso com seus orientandos.

Ao Professor Dr. Fernando Leandro dos Santos, pela co-orientação, amizade, prestatividade e principalmente por todos os ensinamentos adquiridos no decorrer da pesquisa.

Ao Professor Dr. Paulo de Paula Mendes, pela disponibilidade, boa vontade e atenção, contribuindo com seus valiosos conhecimentos na elaboração deste trabalho;

Aos professores da Área de Patologia, Mário Menezes e Márcia Figueiredo pela boa convivência e apoio no decorrer da pesquisa;

Aos Médicos Veterinários Clécio Florêncio, Virgínia Pedrosa, Roseli Pimentel, Suely Bezerra, Lílian Maria, Giana Bastos, Carlos André, Joana Dourado, Andréa Barreto e a bióloga Beatriz Oliveira por toda ajuda e apoio durante as coletas e análise laboratoriais e pelos momentos de convivência agradável;

Aos alunos de graduação João Guimarães, Simone Lira, Bruno Cerqueira e Paulo Albuquerque por toda a ajuda durante o experimento.

A todos os amigos, funcionários, graduandos da UFRPE que contribuíram para a execução desta pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de tabelas	7
Lista de figuras	8
Lista de abreviaturas	9
Resumo	10
Abstract.....	11
1. Introdução.....	12
2. Objetivos.....	13
3. Revisão da literatura	14
3.1. Evolução da carcinicultura	14
3.2. Fatores relacionados à saúde do camarão.....	16
3.3. Vírus da Mionecrose Infecciosa (IMNV).....	18
3.4. Métodos e técnicas de diagnóstico	22
4. Artigo científico.....	23
INTRODUÇÃO.....	2
MATERIAL E MÉTODOS.....	3
RESULTADOS E DISCUSSÃO	5
CONCLUSÕES.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
5. Referências bibliográficas	24
Anexos.....	30
Questionário RECARCINE.....	30
Normas para Publicação no periódico <i>Acta Scientiarum Biological Sciences</i>	33

Lista de tabelas

Tabela 1: Ocorrências da IMNV ao longo dos ciclos de cultivo.....	5
Tabela 2: Demonstrativo de: densidade (Dens.), tempo de cultivo (TC), laboratório (Lab.), Amostras positivas (IMNV), sobrevivência (Sobrev.).....	8
Tabela 3: Valores mínimos, máximos e médias de variáveis de manejo.	9
Tabela 4: Principais achados histopatológicos durante os anos de 2005 a 2006 nas quatro fazendas pesquisadas.	10

Lista de figuras

Figura 1: Infiltração hemocítica focal entre as fibras musculares.	6
Figura 2: Esferóide do órgão linfóide ectópico no coração com miocardite.....	6
Figura 3: Relação entre sobrevivência e tempo de cultivo na presença ou ausência da IMNV.	9

Lista de abreviaturas

- ABCC: Associação Brasileira dos Criadores de Camarão.
- IMNV: Mionecrose Infecciosa Viral.
- BMV: Baculovirus do Monodon.
- B: Bacteriose.
- FAO: Food and Agriculture Organization.
- G: Gregarinas.
- HH: Hepatopancreatite Hemocítica.
- HPV: Parvovirus Hepatopancreatico.
- MrNV: Nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* .
- NACA: Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific.
- NIM: Necrose Idiopática Muscular.
- Davidson's AFA: fixador composto por Álcool, Formol, Ácido acético.
- NHP: Hepatopancreatite Necrosante.
- OIE: Organização Mundial de Saúde Animal.
- PE: Protozoários Epicomensais.
- RT-PCR: Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa.
- TSV: Vírus da Síndrome de Taura.
- WSSV: White Spot Syndrome Virus.
- IHHNV: Vírus da Necrose Infecciosa Hipodermal e hematopoiética.
- PL: pós – larvas.
- XSV : Vírus Extra Small.

Resumo

A Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV), de ação restrita ao nordeste brasileiro até 2006, é a doença de maior impacto negativo na carcinicultura da região. Com objetivo de verificar ocorrência e evolução da IMNV em *Litopenaeus vannamei*, cultivado no litoral de Pernambuco, Brasil, procedeu-se ao exame histopatológico em 60 amostras, provenientes de quatro fazendas, em dois períodos (estio e chuvoso). Os resultados histopatológicos foram relacionados com os do exame a fresco e do inquérito. Em amostras das quatro fazendas foram identificadas lesões sugestivas de IMNV (necrose de coagulação, infiltração hemocítica na musculatura, esferóides ectópicos do órgão linfóide), havendo maior ocorrência de lesões no período de estio. Entretanto, no período chuvoso houve redução da ocorrência, sendo associada a mudança de manejo. O tempo de cultivo e a densidade de estocagem, foram variáveis que influenciaram significativamente ($P < 0,05$) na manifestação da IMNV.

Palavras-chave: histopatologia, IMNV, *Litopenaeus vannamei*.

Abstract

The Infectious Myonecrosis Viral (IMNV), restricted action to the Brazilian northeast up to 2006, is disease of bigger negative impact in the shrimp cultured of the region. Having the objective to verify occurrence and evolution of the IMNV in *Litopenaeus vannamei* cultured on the coast of Pernambuco, Brazil, histopathological examination in 60 samples of shrimps from four farms in two cycles of aquaculture was proceeded. The histopatological findings had been correlated the data of the wet mount and the inquiry. Suggestive injuries of IMNV (coagulation necrosis, muscular hemocitic infiltration, spheroid of the ectopic lymphoid organ) were found in samples of the four studied farms with bigger occurrences in the first cycle. However, in the rainy period it had reduction of the occurrence, being associated the handling change. The raise time and the density were variables which influenced significantly ($P < 0,05$) in the manifestation of the IMNV.

Keywords: histopatological, IMNV, *Litopenaeus vannamei*.

1. Introdução

A carcinicultura, atividade de grande importância econômica e social, vem sendo ameaçada seguidamente por doenças que acometem os camarões, representando as enfermidades um aumento no custo de produção e decréscimo em produtividade. Diante disso, há necessidade de ampliar medidas de biossegurança visando impedir a introdução de enfermidades e/ou garantir o controle daquelas já existentes.

O monitoramento da sanidade dos espécimes cultivados, por meio de técnicas laboratoriais fornecendo informações relativas à presença ou não de patógenos, é de extrema importância para o êxito da atividade. Neste contexto, cabe ressaltar a relevância da pesquisa multidisciplinar em que equipes, através da união de conhecimentos técnico-científicos, possam avançar na identificação e caracterização de doenças, suas causas e medidas de saneamento adequadas.

Foi demonstrado que cerca de 90% das enfermidades, em geral, são veiculadas de um cultivo ao outro por pessoas, equipamentos e/ou transportes (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002). Deste modo, manejo deficiente, desequilíbrio ambiental, mão de obra não qualificada, aquisição de pós-larvas não certificadas e medidas de biossegurança deficientes, são fatores determinantes para propiciar a ocorrência de enfermidades em camarões cultivados.

Dentre as doenças que estão presentes nos camarões cultivados no nordeste do Brasil, a Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV) é a que tem causado maior impacto na carcinicultura desde 2003. Essa doença, modifica o comportamento frente a condições de desequilíbrio ambiental e/ou práticas inadequadas de manejo sanitário, situação em que apresenta grande poder de ação (LIGHTNER, 2005). Manejo sanitário inadequado e desequilíbrio ambiental, também podem causar baixo desempenho produtivo de camarões nas diversas etapas de cultivo. Esses fatores que podem estar relacionados com a IMNV, devem portanto, ser avaliados e monitorados para diminuir a possibilidade de ocorrência da enfermidade. Assim sendo, procurou-se identificar, através de exames histopatológicos, lesões anatomopatológicas associadas à IMNV, em camarões cultivados do estado de Pernambuco, durante o período de estio e chuvoso e relacionar a ocorrência da doença com as práticas de manejo adotadas e com os resultados do exame a fresco.

2. Objetivos

Objetivo geral

Caracterizar aspectos microscópicos compatíveis com a IMNV em camarões marinhos cultivados no estado de Pernambuco.

Objetivos específicos

- Verificar a ocorrência das lesões anatomopatológicas sugestivas de IMNV;
- Caracterizar lesões que apontem a IMNV como provável agente etiológico;
- Avaliar o desenvolvimento de lesões sugestivas de IMNV durante os ciclos de cultivo desde o povoamento até a despesca;
- Correlacionar os resultados obtidos no exame histopatológico com os resultados dos exames a fresco e do inquérito;
- Verificar a probabilidade de ocorrência da IMNV nos dois períodos do ano (estio e chuvoso).

3. Revisão da literatura

3.1. Evolução da carcinicultura

O crescimento do mercado mundial de pescados vem sendo sustentado, cada vez mais, pelo cultivo das espécies, sendo que a carcinicultura se afirma enquanto alternativa de produção de alimento rápida e em grande escala. Segundo Rocha e Maia (1998), o cultivo de camarão marinho iniciou-se na década de 30 na Ásia por pesquisadores japoneses com a espécie *Penaeus japonicus*. Por isso, a carcinicultura mundial concentrava-se inicialmente no Oriente. Dentre os países produtores são citados: China, Tailândia, Vietnã, Índia, Japão, Filipinas e Indonésia. No Ocidente, além do Brasil, destacam-se o Equador que já foi o maior carcinicultor sul-americano, México, Costa Rica, Guatemala, Panamá, Peru e os Estados Unidos (ORMOND et al., 2004).

Um dos fatores determinantes para a expansão da carcinicultura foi a implantação da larvicultura que substituiu a inicial coleta de pós-larvas e juvenis em ambientes naturais. A dependência do uso de pós-larvas silvestres tornava o cultivo do camarão vulnerável à introdução de patógenos (LIGHTNER e PANTOJA, 2001).

Segundo Machado (1998), a rápida, porém pouco planejada expansão de fazendas de camarão criou problemas ambientais, a exemplo do Equador, onde mais de 2.500 hectares de áreas de mangue foram destruídas para construção de viveiros o que afetou seriamente os ecossistemas estuarinos. Tanto no Equador, Taiwan, Indonésia, como em outros, surtos de epidemias associados à degradação ambiental resultaram em acentuada diminuição da produção, chegando, em alguns casos, ao fechamento de fazendas nas décadas de 80 e 90 do século passado (LENOCH, 2004). O controle das doenças infecciosas constitui o maior desafio da carcinicultura mundial, já que elas se mostram capazes de exterminar populações inteiras.

O cultivo de camarões no Brasil teve início tardio, se comparado a outros países (ROCHA, 2003). A exploração empresarial iniciou-se na década de 70, cultivando-se inicialmente, a espécie exótica *Marsupenaeus japonicus*, que, todavia, não se adaptou ao novo ambiente (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002). No final da década de 80 (LENOCH, 2004), foi introduzido o *Litopenaeus vannamei*, espécie também exótica, que devido a sua boa adaptação, tornou-se o principal camarão cultivado no país. Simultaneamente, houve um progresso nas pesquisas relativas à carcinicultura, melhora na qualidade das rações industrializadas e domínio da tecnologia de produção de pós-larvas,

circunstância essa que levou o Brasil a conquistar a auto-suficiência no setor. O impulso tecnológico da carcinicultura, gerador de lucro, nem sempre se fez acompanhar da necessária atenção à sustentabilidade desta atividade produtiva.

Segundo Ormond et al. (2004), o Brasil passou de 7250 toneladas de camarão, em 1998, para 90.000 toneladas, em 2003. A área cultivada passou de 4.320 ha em 1998, para aproximadamente 17.000 ha em 2004. O Censo da Carcinicultura Nacional (ABCC, 2004a) revela a existência de 997 produtores de camarão no país sendo 71,41% formados por pequenos produtores (até 20 ha), 23,37% por médios e 5,22% por grandes produtores, (mais de 50 ha). Estes últimos ocupam 8.744 ha, ou seja, 52,68% do total da área de carcinicultura (16.598 ha).

A região nordeste é responsável por 93,1% da produção nacional de camarão cultivado, sendo que o estado de Pernambuco, ocupante da 4ª posição em termos de produção, forneceu em torno de 4.531 t/ano contribuindo com 6% da produção nacional de camarão (RODRIGUES, 2005).

Os 98 produtores de camarão no estado de Pernambuco, exploram uma área de 1.108 ha de cultivo. Deste total, 88 são pequenos produtores que ocupam 110 ha, produzindo 468 toneladas, sete produtores são de médio porte e exploram uma área de 131 ha produzindo 763 toneladas de camarão e apenas três são considerados grandes produtores ocupando 867 ha e cuja produção é de 3.300 toneladas (ABCC, 2004a).

Segundo Lisboa Filho e Carline Jr. (2004), a produtividade da carcinicultura marinha no Brasil é a maior em termos mundiais. Este desempenho é resultado, em parte, de fatores naturais favoráveis existentes no nordeste do país, tais como condições climáticas, existência de áreas estuarinas bem como salinas desativadas as quais apresentam perfil adequado para a criação de camarões.

O cultivo intensivo e a maior disponibilidade de produtos tecnológicos (equipamentos, fertilizantes, medicamentos, ração, dentre outros), em busca de maior produtividade, no entanto, se fizeram acompanhar da manifestação de enfermidades (LENOCH, 2004). Tal fato preconiza a necessidade de implantar medidas preventivas, bem como um monitoramento capaz de detectar e possibilitar o controle das doenças já presentes.

O avanço do cultivo de camarões no Brasil, segundo Frota (2005), se defronta hoje também com outros problemas, como aqueles decorrentes do baixo preço do produto no mercado internacional, consequência da concorrência da China no comércio do camarão, achatamento dos preços agravados pela revalorização do real, além da necessidade de se agregar valor ao produto.

3.2. Fatores relacionados à saúde do camarão

Os campos de estudo da anatomia patológica, dirigidos aos organismos aquáticos, assim como a medicina veterinária preventiva, relativamente recentes, não possuem ainda o mesmo volume de informações como aqueles dirigidos à criação de espécies terrestres, principalmente dos mamíferos e das aves. Apesar do progresso nas últimas décadas, o cultivo de animais aquáticos, entre eles o camarão, defronta-se com problemas típicos de início da produção animal de forma intensiva.

Conforme Martins (2006), a carcinicultura pode ser caracterizada como uma cadeia de elos interligados (o camarão, o ambiente de cultivo e os patógenos) que, quando quebrada, propicia o surgimento da doença. Esta concepção, apoiada no esquema clássico de Sniesko (1973), citado por Marques et al. (2006), tem o mérito de chamar atenção para a complexidade e interdependência destes três fatores. No entanto, segundo Thrusfield (2004), em se tratando do cultivo intensivo, seria indicado acrescentar o manejo como quarto elemento a completar a tríade anteriormente mencionada. Esta observação é pertinente dada à crescente importância atribuída à ação humana para a manutenção do equilíbrio dos componentes citados. A maior atenção ao manejo evita o risco de superdimensionar a influência de fatores naturais, tais como as chuvas, na carcinicultura. Por outro lado evita minimizar determinantes decorrentes do manejo ou mesmo da intervenção do homem no ambiente circundante.

Segundo Thrusfield (2004) o rompimento do equilíbrio nesta interação dos fatores mencionados e a consequente resposta do peneídeo por meio da expressão da doença tem, geralmente, além do determinante primário com maior ação na indução da doença (o vírus, por exemplo), outros fatores que predisõem ou reforçam o desenvolvimento da enfermidade. O mesmo autor, afirma ainda, que animais cultivados em sistemas intensivos, são alvos de doenças por infecção simultânea com mais de um agente, seja infeccioso ou não.

O estresse é referido pelos epidemiologistas como sendo fator iniciante ou predisponente ao surgimento de doenças em animais cultivados (LE MOULLAC e HAFFNER, 2000). Especificamente na carcinicultura, o estresse tem sido citado com frequência, como esse fator predisponente relacionando-o ao desequilíbrio do meio ambiente, a uma maior vulnerabilidade dos espécimes, culminando em debilidade, manifestação de doenças e, conforme a severidade daquelas, em morte (LIGHTNER, 1997; NUNES et al., 2002; RICHARD JR, 2006).

A enfermidade é resultante de uma resposta pouco eficiente do animal a agentes lesivos, dentre os quais microrganismos patogênicos. Segundo Jones et al. (2000), a maioria das respostas são mecanismos de defesa visando neutralizar ou eliminar o agente lesivo. Se a resposta não é bem sucedida, instala-se a doença. Para Thrusfield (2004), o estresse abrange uma grande variedade de respostas do animal a estímulos ou mudanças ambientais. Segundo esse autor, apesar de não existir uma teoria geral do estresse aceita unanimemente, nem tão pouco uma definição exata do papel da imunossupressão na predisposição dos animais a doenças infecciosas, há evidências, a partir de estudos epidemiológicos, de sua relevância funcional. Alerta ainda, para a possibilidade de o estresse tornar-se um “termo conveniente” que poderá dificultar a compreensão de princípios e mecanismos ainda não explicados.

Devido à freqüente e complexa interação de vários fatores no surgimento de uma doença, convém considerar a possibilidade levantada por Jones et al. (2000), de a imunossupressão ser influenciada por deficiências nutricionais e pela exposição do animal a agentes tóxicos inorgânicos ou orgânicos.

A estratégia básica de combate a doenças do camarão se dá através da ação de células de defesa chamadas hemócitos, produzidas pelo tecido hematopoiético (CHING, 2005). Quando um agente patogênico invade órgãos ou tecidos do camarão, há uma mobilização dos hemócitos em direção à infecção. Entre os mecanismos de defesa do camarão se destacam a fagocitose através da qual os hemócitos eliminam as partículas estranhas, ou mesmo células envelhecidas, e a formação de granulomas quando os hemócitos englobam o microrganismo estranho provocando a sua morte (BARRACO, 2004).

As doenças (alterações adversas na saúde ou no desempenho zootécnico dos camarões cultivados) que acometem os camarões cultivados, apresentam etiologias diversas, podendo estas serem ocasionadas por agentes biológicos ou não biológicos (COUCH, 1978; BELL e LIGHTNER, 1987; JOHNSON, 1989). Grande parte das enfermidades detectadas na carcinicultura está relacionada a microrganismos patogênicos oportunistas (MARTINS, 2006), que são encontrados tanto na água e sedimentos marinhos quanto nos espécimes cultivados (LIGHTNER, 1983). Particularmente as doenças de origem viral desafiam pesquisadores e produtores, pois têm sido a causa de maior impacto econômico negativo, sendo responsáveis por perdas massivas (LIGHTNER, 1997; FLEGEL et al., 2004). Por outro lado, as de origem bacteriana, como as vibrioses, são responsáveis por 100% das perdas na larvicultura, podendo atingir todos os estágios de vida dos peneídeos (PEREIRA, 2002).

É imprescindível, em se tratando de doenças que atingem os peneídeos, conhecer a anatomia, a fisiologia e como determinados órgãos ficam comprometidos quando são acometidos por enfermidades.

O exoesqueleto é o revestimento externo que protege o crustáceo, funcionando como barreira protetora. Na Síndrome de Taura (TSV), o exoesqueleto apresenta-se com múltiplas erosões melanizadas, deixando o animal vulnerável a agentes externos. Já a musculatura possibilita movimentos de fuga (para trás) que, quando lesionada, como na IMNV, apresenta necrose muscular dificultando a locomoção do animal. As brânquias têm funções de osmoregulação, fagocitose e respiração. Quando elas ficam afetadas, seja por sujidades, presença de protozoários epicomensais ou colonizadas por bactérias como as vibrionáceas, suas funções ficam prejudicadas, podendo o animal morrer de anóxia.

O hepatopâncreas, outro importante órgão, exerce função de digestão, absorção e estocagem de alimentos. Na Hepatopancreatite Necrosante (NHP), este órgão apresenta-se com necrose, processo inflamatório com presença de lesões granulomatosas, podendo esta disfunção afetar o desenvolvimento e levar à morte dos espécimes (OSUMA, 2001). O intestino desempenha além da absorção, a excreção de alimentos. Quando acometido por infestações massivas de gregarinas, que disputam o alimento com o seu hospedeiro, o camarão apresenta crescimento reduzido.

3.3. Vírus da Mionecrose Infeciosa (IMNV)

A Mionecrose Infeciosa Viral (IMNV) era inicialmente, denominada de Necrose Idiopática Muscular (NIM) quando ainda não havia sido definida sua etiologia. Apesar do vírus ter sido identificado apenas recentemente na espécie *Litopenaeus vannamei*, existem dúvidas de sua ocorrência anterior já que há 35 anos vem sendo descritas doenças com sintomas similares (SANTANA et al., 2004). Estes autores fizeram um levantamento bibliográfico (décadas de 70 e 80) referentes às enfermidades que acometeram o camarão e constataram que necroses musculares semelhantes àquela observada na IMNV foram descritas desde 1970. Estas doenças denominadas Necrose Espontânea Muscular, foram diagnosticadas no *Penaeus aztecus* nos E.U.A em 1970, no México em 1978 e na espécie nativa *Farfantepenaeus subtilis* na zona costeira do estado do Piauí na década de 80. No estudo mencionado levanta-se a hipótese da IMNV ser uma reincidência de uma doença em um novo hospedeiro, o *L. vannamei*. A presença do *F. subtilis* infectado no litoral próximo aos

criatórios do *L. vannamei* pode ter facilitada a disseminação da doença, pelas fazendas do nordeste.

A IMNV foi inicialmente localizada no Piauí em 2002. Entre 2003 e 2004 ela se disseminou pelos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, sendo estimado em cerca de 20 milhões de dólares as perdas causadas pela doença em 2003 (OIE, 2006). No início de 2004, a origem viral da doença foi confirmada por Donald Lightner através de microscopia eletrônica e análise genômica (NUNES et al., 2004). Apesar de indícios da doença em outros países criadores de *L. vannamei*, o registro da IMNV ficou restrito ao nordeste brasileiro até 2006 quando sua presença também foi confirmada na Indonésia por Donald Lightner (SENAPIN et al., 2007).

Desde 1992 ao sul de Taiwan, tem sido observada epizootia semelhante a NIM em camarões de água doce (TUNG et al., 1999). A enfermidade da Cauda Branca que afeta o *Macrobrachium rosenbergii* apresenta lesões semelhantes a IMNV, como necrose muscular multifocal e opacidade da cauda. Atualmente a etiologia viral da doença está confirmada tendo sido isolados o Nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* (MrNV) e o vírus extra small (XSV) (OIE, 2006).

Outra enfermidade similar a IMNV foi estudada em camarões cultivados em Belize que, além de sinais macroscópicos semelhantes a IMNV, apresentaram lesões microscópicas como necrose muscular e esferóides do órgão linfóide ectópicos também presentes na IMNV. Apesar da confirmação da origem viral da enfermidade, o resultado foi negativo para o vírus da IMN (POULOS et al., 2006; LIGHTNER et al., 2006).

No estado de Pernambuco, Brasil, o vírus da IMN foi diagnosticado por Pinheiro (2006) usando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa (RT-PCR).

Segundo Lightner et al. (2005), a IMNV se manifesta na fase inicial com elevada mortalidade, passando para um estágio crônico com mortalidade mais baixa. É uma doença, de acordo com Lightner e Pantoja (2004) associada a estresse físico e ambiental, causando altas mortalidades em juvenis de *L. vannamei*.

O agente etiológico da IMNV é um RNA vírus pertencente à família Totiviridae, tem formato esférico, medindo 40 nanômetros (HASSON et al., 2005). Graf et al. (2003), concluíram que o maior meio de transmissão da doença, após experimento realizado com camarões sadios seria a ingestão direta de tecidos contaminados.

No relatório da Associação Brasileira dos Criadores de Camarão (ABCC, 2004b) é apontado o desequilíbrio ambiental como provável desencadeador da IMNV nos estados do

Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte. Desequilíbrio este, provocado por mudanças físico-químicas e biológicas no meio aquático com alterações de salinidade e da flora e fauna planctônicas em decorrência de La Niña que provocou precipitações pluviiais acima do normal em 2003 e 2004. Segundo o relatório citado, houve diminuição da sobrevivência dos camarões nos meses que seguiram o período chuvoso. Nos meses de estiagem, com o restabelecimento do equilíbrio, houve uma melhora da sobrevivência nos cultivos.

Estudo de Leça e Leitão (2004), revelou, entre outros organismos aquáticos, a existência de 100% da cianobactéria *Pseudanabaena cf limnetica* nas regiões pesquisadas, sendo sua presença menor na captação de água que nos viveiros, o que indicaria um processo de eutrofização nos cultivos, característica de desequilíbrio aquático. Esse por sua vez, exige dos camarões maior dispêndio energético na regulação osmótica provocando estresse e, conseqüentemente, maior suscetibilidade a bactérias patogênicas, protozoários epicomensais e à contaminação pelo vírus da IMN. Porém, segundo as autoras, os estudos ainda não podem ser considerados conclusivos.

Odebrecht et al. (2003), também, referiram-se às cianobactérias como sendo os organismos que apresentaram os mais altos valores na análise das amostras de plâncton e camarão originárias do Piauí e Ceará, o que poderia representar riscos ao cultivo. Bittencourt-Oliveira et al. (2003) associaram as florações de cianobactérias à poluição causada pela ação humana e afirmam que as hepatotoxinas produzidas pelas cianobactérias são as toxinas com mais frequência relacionadas ao envenenamento humano e animal. Essas toxinas apresentam efeitos deletérios aos espécimes cultivados.

Na complexa interação de fatores físicos, químicos, biológicos somados à intervenção humana, a presença de cianobactérias é, no entanto, apenas uma das tantas possíveis variáveis envolvidas no desequilíbrio do ambiente de cultivo. O manejo pode também ser o desencadeante do estresse, sendo que a densidade elevada de estocagem adotada nos criatórios do Brasil, pode ter contribuído para a expressão da doença (NUNES et al., 2004; GESTEIRA, 2006). Densidades elevadas reduzem o espaço vital natural dos indivíduos propiciando um contato maior e estressante entre eles, bem como o canibalismo e a ingestão de partículas infectadas pelo vírus da IMN.

A ABCC (2004b) apresentou levantamento da “variação de sobrevivência em função da densidade de povoamento” em fazendas do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte, regiões onde ocorreu a IMNV. Por este levantamento parece não ser possível estabelecer parâmetros seguros para a relação destes dois fatores já que evidencia resultados diferenciados nas várias fazendas estudadas. Apesar de que alta densidade, enquanto um dos determinantes

secundários para o desencadeamento e/ou agravamento de enfermidades, ser uma hipótese a ser considerada, há necessidade de relacioná-la a outros fatores envolvidos no cultivo como, por exemplo, a nutrição, a qualidade da água, a origem das pós larvas. Todavia, parece se confirmar a IMNV, como tantas outras, ser uma doença multifatorial (THRUSFIELD, 2004), onde vários fatores exercem o papel de determinantes secundários havendo, entretanto, um agente principal, no caso o vírus da IMN.

Segundo Nunes et al. (2004), os camarões infectados por esta doença apresentam necrose dos músculos estriados do abdômen e do cefalotórax. A cauda pode apresentar aspecto leitoso, perdendo a transparência. Os músculos e os apêndices afetados exibem uma coloração avermelhada, com aparência de camarão cozido. Na fase aguda, a mionecrose é de coagulação, caracterizada pela presença de edema entre as fibras musculares, podendo as lesões se concentrarem em uma ou em várias áreas. Conforme relatos de Lightner et al. (2005), no estágio crônico a necrose evolui da forma coagulativa para a liquefação dos músculos, ocorrendo fibrose e infiltração hemocítica na musculatura. Os espécimes infectados por IMNV apresentam ainda hipertrofia do órgão linfóide, e a formação de esferóides ectópicos do órgão linfóide (OIE, 2004).

Conforme Nunes et al. (2004), os peneídeos enfermos podem apresentar redução de consumo alimentar. Anorexia, diminuição do volume do hepatopâncreas, diminuição de lipídeos, nado desorientado, dificuldade para endurecer a carapaça, são outros sintomas sugestivos desta doença. Os camarões afetados pela IMNV têm aparência muito debilitada e apresentam, com facilidade, flexão do 3º segmento abdominal.

A taxa de sobrevivência apresenta-se baixa na fase aguda, sendo mais baixa em indivíduos juvenis (6 g a 7 g) até sub adultos (9 g a 10 g). Para camarões apresentando 12 g aqueles autores mencionaram taxas de sobrevivência final de 35% a 55% em viveiros afetados pelo vírus da IMN. Entretanto, Hasson et al. (2005) estimaram em 60 a 95% a mortalidade em juvenis de *L. vannamei* em decorrência da IMNV. Os prejuízos econômicos são elevados, pois a mortalidade maior e/ou perda da biomassa acontecem após a fase de maior consumo de ração do ciclo de engorda.

A mortalidade, segundo Nunes et al. (2004) inicia-se no berçário, podendo ocorrer ao longo de todo ciclo de engorda, acentuando-se quando os camarões são submetidos a estresse. Esses autores apontam algumas condições que proporcionam o surgimento e a proliferação da doença:

- Os períodos de muda quando o camarão se apresenta fisiologicamente mais frágil;

- Os períodos de estímulo migratório (fases lunares, marés) associados à diminuição de consumo alimentar;
- Cultivo super-intensivo (alta densidade de estocagem), uso inapropriado e irresponsável de fertilizantes, pouca oxigenação na água, elevada quantidade de matéria orgânica, que de modo geral são condições que contrariam a natureza do camarão e de suas relações com seu habitat natural.

3.4. Métodos e técnicas de diagnóstico

Sendo as doenças um dos maiores problemas da carcinicultura, torna-se necessário aperfeiçoar e difundir métodos e técnicas que permitam um diagnóstico rápido e seguro, detectando as lesões e os respectivos agentes causadores nos viveiros de camarão. Nos camarões, assim como em outros animais aquáticos, agentes etiológicos diversos podem ser responsáveis pela manifestação de sinais clínicos. Por isso, a fim de se obter um diagnóstico seguro esse deve embasar-se, além de observações a campo, em análises laboratoriais (PEREIRA e SANTOS, 2003). O diagnóstico deve ser efetuado o mais cedo possível, pois é essencial para o controle das doenças e diminuição do impacto econômico. Os métodos devem ser sensíveis, confiáveis, capazes de detectar a doença e estar acessíveis a técnicos e pesquisadores (LIGHTNER e PANTOJA, 2001).

Nem sempre se consegue identificar as doenças que afetam camarões através de exame clínico macroscópico, já que há lesões que são comuns a várias doenças, sendo necessário o uso de técnicas mais confiáveis de diagnóstico. Por outro lado, animais que não apresentam sinais visíveis da doença podem estar infectados. Em estudo realizado por Flegel et al. (2004), 94% dos camarões aparentemente “normais”, submetidos à técnicas de diagnóstico mais sensíveis, apresentaram resultado positivo para, ao menos, um dos seguintes quatro vírus: Parvovirus Hepatopancreatico (HPV); Baculovirus do Monodon (MBV); Vírus da síndrome da Mancha Branca (WSSV) e Vírus da Necrose Infeciosa Hipodermal e Hematopoiética (IHHNV).

O exame histopatológico é tido como uma importante ferramenta que descreve os tipos e a intensidade de lesões microscópicas presentes nos tecidos e órgãos dos animais de uma forma geral. Alternativamente, a análise a fresco apenas possibilita monitorar o estado de saúde dos camarões, sendo considerado um método de triagem rápido e econômico.

4. Artigo científico

O artigo intitulado “Estudo anatomopatológico da Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV) no camarão cultivado, *Litopenaeus vannamei*, em Pernambuco, Brasil”, será submetido à revista Acta Scientiarum: Biological Sciences.

1 ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO DA MIONECROSE INFECCIOSA VIRAL (IMNV)
2 NO CAMARÃO CULTIVADO, *Litopenaeus vannamei*, EM PERNAMBUCO, BRASIL.
3 ANATOMOPATHOLOGICAL STUDY OF INFECTIOUS MYONECROSIS VIRAL (IMNV) IN THE CULTURED
4 SHRIMP, *Litopenaeus vannamei*, IN PERNAMBUCO, BRAZIL.

5
6 Verônica Arns da Silva², Virgínia Fonseca Pedrosa², Suely Santos Bezerra², Emiko Shinozaki
7 Mendes¹, Fernando Leandro dos Santos¹, Paulo de Paula Mendes¹.

8 ¹Professores da UFRPE, ² Pós-graduanda da UFRPE, ³Médico Veterinário.

9 ¹Depto de Medicina Veterinária/UFRPE. End. Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois
10 Irmãos. Recife/PE, Brasil (81) 3320-6419/3320-6421 (esmendes@dmv.ufrpe.br,
11 fls@dmv.ufrpe.br),

12 ¹Depto de Pesca e Aqüicultura/UFRPE. End. Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos.
13 Recife/PE, Brasil (81) 3320-6420 / 3320-65-07 (susantos@terra.com.br,
14 paulo_ufrpe@yahoo.com.br, vikavet@yahoo.com.br, veronicaarns@yahoo.com.br).

15
16 **RESUMO**

17
18 A Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV), de ação restrita ao nordeste brasileiro até
19 2006, é a doença de maior impacto negativo na carcinicultura da região. Com objetivo de
20 verificar ocorrência e evolução da IMNV em *Litopenaeus vannamei*, cultivado no litoral de
21 Pernambuco, Brasil, procedeu-se ao exame histopatológico em 60 amostras, provenientes de
22 quatro fazendas, em dois períodos (estio e chuvoso). Os resultados histopatológicos foram
23 relacionados com os do exame a fresco e do inquérito. Em amostras das quatro fazendas
24 foram identificadas lesões sugestivas de IMNV (necrose de coagulação, infiltração hemocítica
25 na musculatura, esferóides ectópicos do órgão linfóide), havendo maior ocorrência de lesões
26 no período de estio. Entretanto, no período chuvoso houve a redução da ocorrência, sendo
27 associada a mudança de manejo. O tempo de cultivo e a densidade de estocagem foram
28 variáveis que influenciaram significativamente ($P < 0,05$) na manifestação da IMNV.

29 **PALAVRAS-CHAVE:** histopatologia, IMNV, *Litopenaeus vannamei*.

30
31 **ABSTRACT**

32
33 The Infectious Myonecrosis Viral (IMNV), restricted action to the Brazilian northeast
34 up to 2006, is disease of bigger negative impact in the shrimp cultured of the region. Having
35 the objective to verify occurrence and evolution of the IMNV in *Litopenaeus vannamei*
36 cultured on the coast of Pernambuco, Brazil, histopathological examination in 60 samples of
37 shrimps from four farms in two cycles of aquaculture was proceeded. The histopathological
38 findings had been correlated the data of the wet mount and the inquiry. Suggestive injuries of

39 IMNV (coagulation necrosis, muscular hemocytic infiltration, spheroid of the ectopic lymphoid
40 organ) were found in samples of the four studied farms with bigger occurrences in the first
41 cycle. However, in the rainy period it had reduction of the occurrence, being associated the
42 handling change. The raise time and the density were variables which influenced significantly
43 ($P < 0,05$) in the manifestation of the IMNV.

44 **KEYWORDS:** histopatological, IMNV, *Litopenaeus vannamei*.

45

46 INTRODUÇÃO

47

48 A ocorrência de doenças, particularmente de origem viral, desafia pesquisadores e
49 produtores, pois têm sido responsáveis por perdas massivas na carcinicultura (Flegel et al.,
50 2004). A sustentabilidade da carcinicultura depende, dentre outros, do conhecimento
51 multidisciplinar para adoção de medidas preventivas e monitoramento das enfermidades.

52 A Mionecrose Infecciosa Viral (IMNV), inicialmente denominada de Necrose
53 Idiopática Muscular (NIM), é uma doença que causou grande impacto na carcinicultura do
54 nordeste brasileiro. Existem dúvidas de sua ocorrência anterior, já que há 35 anos vem sendo
55 descritas doenças com sintomas similares. Santana et al. (2004), em levantamento
56 bibliográfico relativo às décadas de 70 e 80, constataram que necroses musculares,
57 semelhantes àquelas observadas na IMNV, foram diagnosticadas no *Penaeus aztecuz* nos
58 EUA em 1970 (Rigdon e Baxter, 1970); no México em 1978 (Lakshmi et al., 1978) e na
59 espécie nativa *Farfantepenaeus subtilis* na zona costeira do Piauí na década de 80. Diante
60 dessas ocorrências, Santana et al. (2004) levantaram a hipótese da IMNV ser uma reincidência
61 de uma doença em um novo hospedeiro, o *L. vannamei* e que a presença do *F. subtilis*
62 infectado no litoral piauiense, próximo aos criatórios do *L. vannamei*, pode ter funcionado
63 como reservatório e facilitado a disseminação da doença por fazendas do nordeste.

64 Carvalho (2005) cita que há relatos de opacidade muscular em crustáceos de outros
65 países, não somente nas espécies citadas anteriormente, ocorrendo também em lagostas na
66 Austrália, lagostins na Escócia e no *Pandalus borealis* (camarão do Ártico), no Alaska.

67 A IMNV foi inicialmente localizada no Piauí em 2002. Em 2003, ela já se encontrava
68 disseminada pelos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e, em 2004, foi detectada também
69 na Paraíba e em Pernambuco. Em 2003, as perdas propiciadas por esta doença foram
70 estimadas em cerca de 20 milhões de dólares (OIE, 2006). O registro da IMNV ficou restrito
71 ao nordeste brasileiro até 2006, quando também foi confirmada sua presença na Indonésia por
72 Donald Lightner (Senapin et al., 2007).

73 Segundo Lightner et al. (2005), a mortalidade mais elevada ocorre na fase inicial da
74 IMNV, em juvenis de *L. vannamei*. A seguir, na fase crônica da doença, as taxas de
75 mortalidade apresentam-se mais baixas. É uma enfermidade associada a estresse físico e
76 ambiental (Carvalho, 2005).

77 Em relatório sobre a evolução da IMNV nos estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do
78 Norte (ABCC, 2004), a doença também foi relacionada ao desequilíbrio do ambiente aquático
79 causando estresse nos espécimes, principalmente pelo dispêndio energético no processo de
80 osmoregulação. Tal fato provocou redução do crescimento, debilidade, redução da defesa
81 imunológica, suscetibilidade a infecções oportunistas e a enfermidades virais, como a IMNV
82 (Lima et al., 2004). Outro determinante negativo considerado na ocasião, foi a presença de
83 organismos aquáticos característicos de ambientes em desequilíbrio, tais como a cianobactéria
84 *Pseudoanabaena cf limnetica*. A sua presença teria possibilitado a ação de patógenos,
85 inclusive do vírus da IMN (Leça e Leitão, 2004).

86 O agente etiológico da IMN é um vírus pertencente à família Totiviridae, tem formato
87 esférico, medindo 40 nanômetros (Hasson et al., 2005). Após experimento realizado com
88 camarões sadios, Graf et al. (2003) chegaram à conclusão de que a ingestão direta de tecidos
89 contaminados seria o maior meio de transmissão da doença.

90 A IMNV apresenta como característica histopatológica a necrose dos músculos
91 estriados do abdômen e do cefalotórax. Anorexia, diminuição do volume do hepatopâncreas,
92 diminuição de lipídeos, nado desorientado, dificuldade para endurecer a carapaça, flexão do
93 3º segmento abdominal, são outros sintomas sugestivos desta doença (Nunes et al., 2004).

94 Diante do exposto e dada a importância da doença na carcinicultura, procurou-se
95 identificar, através de exames histopatológicos, lesões sugestivas de IMNV no *L. vannamei*
96 cultivado em fazendas do estado de Pernambuco e associá-las aos dados de cultivo.

97

98 MATERIAL E MÉTODOS

99

100 Foram avaliados camarões de quatro fazendas do estado de Pernambuco, Brasil. Duas
101 situadas no litoral sul (A e D) e duas no litoral norte (B e C), durante o período de estio
102 (novembro/2005 a março/2006) e chuvoso (abril a setembro de 2006). A partir de uma lista
103 fornecida pela Comissão de Carcinicultura da Federação da Agricultura do Estado de
104 Pernambuco (FAEPE) e considerando a concordância em participar da pesquisa, decidiu-se
105 trabalhar com uma amostra representativa das fazendas.

106 Inicialmente, aplicou-se um questionário (inquérito) para a obtenção de informações a
 107 respeito do manejo de cultivo e sanitário, as quais foram utilizadas para correlacionar a lesões
 108 sugestivas de IMNV.

109 As amostras foram mensalmente coletadas de dois viveiros de cada fazenda, desde o
 110 povoamento do viveiro (tempo zero) até a despesca, contendo cada amostra 10 camarões, num
 111 total de 60 amostras (30 no período de estio e 30 no chuvoso), perfazendo 600 camarões. Os
 112 espécimes foram coletados com o uso de tarrafas e conduzidos vivos ao Laboratório de
 113 Sanidade de Organismos Aquáticos (LASOA) do Departamento de Medicina Veterinária da
 114 Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os camarões foram transportados sob
 115 aeração em baldes contendo água originária de tanques berçários ou dos viveiros de engorda.

116 Para o exame histopatológico, os camarões foram sacrificados por choque térmico, e
 117 em seguida mergulhados ou infiltrados com solução Davidson's AFA (Humason, 1972),
 118 dependendo do tamanho dos espécimes. Pós-larvas permaneceram no fixador por 12 a 24 h e
 119 indivíduos maiores permaneceram por 24 a 72 h. Após esse tempo foram transferidos ao
 120 álcool a 50% até o momento de serem desidratados, diafanizados, incluídos em parafina e
 121 cortados a uma espessura de 3 a 6 μm no micrótomo de parafina. As lâminas foram coradas
 122 pelo método da hematoxilina e eosina (Luna, 1968) e analisadas a microscopia óptica.

123 No exame a fresco, tecidos e órgãos de dez camarões por amostra foram analisados
 124 macro e microscopicamente segundo as recomendações de Pereira e Santos (2003). Na análise
 125 de dados utilizou-se, para relacionar a probabilidade de ocorrência da IMNV em função das
 126 variáveis de manejo e análises laboratoriais, o modelo abaixo:

$$127 \text{Prob}_{(IMNV)} = \beta_0 + \beta_1 \text{Faz} + \beta_2 \text{EA} + \beta_3 \text{Vlv} + \beta_4 \text{TC} + \beta_5 \text{Doenças} + \beta_6 \text{EF} +$$

$$128 \beta_7 \text{Tox} + \beta_8 \text{Dens} + \beta_9 \text{Ração} + \beta_{10} \text{Lab} + \beta_{11} \text{Berc} + e_i$$

130
 131 Em que: $\text{Prob}_{(IMNV)}$ - probabilidade de ocorrência da IMNV, $\beta_0, \beta_1 \dots \beta_{11}$ - parâmetros do
 132 modelo; Faz - fazendas; EA - estação do ano; Viv - viveiro; TC - tempo de cultivo; Doenças -
 133 ocorrência de outras doenças; EF- exame a fresco; Tox - toxinas; Dens - densidade; Ração -
 134 ração utilizada; Lab - laboratório fornecedor de pós-larvas; Berc - berçário; e_i - erro associado
 135 a cada observação.

136 *Where: Prob_(IMNV) - probability of occurrence of IMNV, $\beta_0, \beta_1 \dots \beta_{11}$ - parameters of the model; Faz -*
 137 *farms; EA - Seasons; Viv - fishery; TC - raise time; diseases - occurrences of other diseases; EF - wet mount;*
 138 *Tox - toxins; Dens - density; Ração - ration; Lab - supplier laboratory of postlarvae; Berc - (nursery); e_i -*
 139 *associated mistake to each observation.*

140
 141 As variáveis independentes foram inseridas no modelo sob forma de sistema binário,
 142 exceto o tempo de cultivo e densidade de estocagem. Para correlacionar a variável

143 sobrevivência em função de algumas variáveis contidas no banco de dados, foi utilizado o
144 modelo abaixo:

$$145 \quad \text{Sobrev}^\lambda = \beta_0 + \beta_1 \text{Faz} + \beta_2 \text{TC} + \beta_3 \text{IMNV} + \beta_4 \text{Dens} + e_i$$

146
147 Em que: Sobrev^λ - sobrevivência dos cultivos, λ – fator transformação de Box e Cox; β₀, β₁.
148 β₄ - parâmetros do modelo; Faz - fazendas; TC- tempo de cultivo; IMNV - ocorrência da
149 IMNV; Dens – densidade; e_i - erro associado a cada observação.

150 *Where: Sobrev – survival of the raises; λ – transformation factor Box and Cox β₀, β₁ ... β₄ - parameters of*
151 *the model; Faz – farms; TC – raise time; IMNV – IMNV occurrence, associated mistake to each observation.*
152

153 Para selecionar as variáveis significativas nos modelos, utilizou-se o processo de
154 Stepwise Forward, como citado por Mendes (1999), estabelecendo-se, como padrão a
155 estatística “F” de Snedecor de entrada e saída em 4. Associado ao processo de Stepwise,
156 transformou o vetor resposta (sobrevivência) a: $\frac{\text{Sobrev}^\lambda - 1}{\lambda \text{TC}^\lambda - 1}$, de acordo com Mendes et
157 al.(2006), objetivando minimizar a soma dos quadrados dos resíduos e normalizar o referido
158 vetor. Todos os cálculos para ambos modelos foram estimados pelo programa computacional
159 Syseapro versão β assim como o programa Excel para obtenção do gráfico.

160 Afim de verificar uma possível relação entre período chuvoso e resultados indicativos
161 de IMNV, buscou-se o índice pluviométrico do período em que foram efetivadas as coletas.

162

163 RESULTADOS E DISCUSSÃO

164

165 No total de 60 amostras analisadas (Tabela 1) houve 31 ocorrências de lesões
166 sugestivas de IMNV, em que 20 ocorreram no período de estio e 11 no período chuvoso o que
167 aparentemente, contradiz ao que indica o relatório da ABCC (2004). Segundo esse, o
168 desequilíbrio ambiental, decorrente de fortes chuvas, é apontado como provável
169 desencadeador da IMNV.

170

171 Tabela 1: Ocorrências da IMNV ao longo dos ciclos de cultivo.

172 *Table 1: IMNV occurrences throughout the raise cycle.*

Período	Amostras	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	Total
Estio	Total/IMNV	8/0	8/7	8/7	5/5	1/1	30/20
Chuvoso	Total/IMNV	7/0	8/0	8/5	6/6	1/0	30/11

173

174 O índice pluviométrico, referente à região onde se situam as fazendas pesquisadas,
175 registrou no litoral norte, precipitações acima de 100 mm entre fevereiro (154 mm) e agosto

176 (161 mm) de 2006, com pico em julho (319 mm). No litoral sul, as maiores precipitações
 177 ocorreram a partir de janeiro de 2006 (112 mm), com pico em junho (362 mm) estendendo-se
 178 até a última coleta efetuada em setembro com 146 mm de chuva (LAMEPE/ITEP, 2006).
 179 Considerando-se que a maior ocorrência de lesões indicativas de IMNV se deu no período de
 180 estio, época de menor quantidade de chuvas, não pode ser aventada uma relação causal entre
 181 chuva (desequilíbrio ambiental decorrente da mesma) e a expressão da enfermidade.

182 Um aumento gradativo de amostras apresentando sinais positivos de IMNV ocorreu
 183 entre a 2ª coleta (sete do total de 16 amostras), a 3ª coleta (12 do total de 16 amostras) e a 4ª
 184 coleta. Nesta, em cinco viveiros já havia sido feito a despesca. Todas as amostras da 4ª coleta
 185 (11) apresentaram lesões sugestivas de IMNV.

186 Nas amostras do tempo zero (1ª coleta) com pós-larvas que variavam de PL₉ a PL₂₇,
 187 tanto no 1º quanto no 2º ciclo de cultivo, não se evidenciou lesões indicativas de IMNV no
 188 exame histopatológico. Isto pode ser sugestivo das seguintes hipóteses: não se conseguiu
 189 detectar lesões em pós-larvas nos seus estágios iniciais devido ao pequeno tamanho ou as pós-
 190 larvas se apresentaram livres do IMNV infectando-se os camarões nas próprias fazendas, já
 191 que a partir da 2ª coleta foram constatadas lesões sugestivas de IMNV.

192 Foram observados os seguintes achados histopatológicos sugestivos da IMNV:
 193 necrose de coagulação caracterizada por edema entre as fibras musculares, tanto em
 194 fragmentos do cefalotórax quanto nos 5º e 6º segmentos abdominais. Alguns espécimes
 195 apresentaram áreas de fibrose e infiltração hemocítica entre as fibras musculares (Figura 1),
 196 caracterizando uma miosite, o que conduz a um quadro sugestivo da fase crônica da doença
 197 (Lightner et al., 2005). Esferóides do órgão linfóide ectópicos foram observados na glândula
 198 antenal, tecido conectivo do coração, no miocárdio (Figura 2), localizados entre o
 199 hepatopâncreas e o coração e na musculatura do 5º e 6º segmentos abdominais.

200

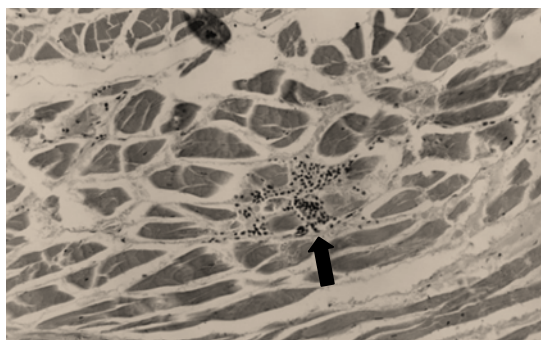


Figura 1: Infiltração hemocítica focal entre as fibras musculares.

Figure 1: Focal hemocytic infiltration between muscle fibers.



Figura 2: Esferóide do órgão linfóide ectópico no coração com miocardite.

Figure 2: Spheroid of the ectopic lymphoid organ in a heart with myocarditis.

201 Tang et al. (2003) citaram que a presença de esferóides do órgão linfóide é um achado
202 histopatológico típico da IMNV. Os esferóides resultam de um mecanismo de defesa realizada
203 no órgão linfóide através de englobamento do agente invasor por células de defesa,
204 objetivando expulsá-lo.

205 Convém observar que a necrose muscular, considerada típica da IMNV, foi constatada
206 também na doença da cauda branca do *Macrobrachium rosenbergii* (Tung et al., 1999), cuja
207 etiologia foi atribuída ao Nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* (MrNV) (OIE, 2006).
208 Camarões cultivados em Belize, apesar de apresentarem necrose muscular e esferóides
209 ectópicos do órgão linfóide, obtiveram resultado negativo para o vírus da IMN (Poulus et al.,
210 2006; Lightner et al., 2006). Entretanto, em Pernambuco, pesquisa utilizando RT-PCR
211 (Pinheiro, 2006) não deixa dúvidas quanto à presença da IMNV em animais de fazendas dos
212 mesmos municípios de onde se originaram as amostras analisadas no presente trabalho. Tal
213 fato corrobora a probabilidade de que as lesões aqui mencionadas possam ser realmente
214 atribuídas a IMNV.

215 Analisando a Tabela 2, convém esclarecer que a fazenda C foi excluída do
216 demonstrativo, pelo fato de não ter sido possível obter dela as informações necessárias.

217 Para discutir os dados deste estudo, convém considerar, de acordo com Martins
218 (2006), que a carcinicultura é uma complexa cadeia de elos interligados: camarão-ambiente-
219 patógeno. O rompimento do equilíbrio desses fatores e a conseqüente expressão da doença
220 pelo peneídeo, no caso, da IMNV, tem além do vírus como determinante de maior ação,
221 outros fatores que predis põem ou reforçam o desenvolvimento da doença.

222 Assim, a elevada densidade de estocagem praticada por ocasião da manifestação da
223 IMNV nos estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte, foi considerada um dos estressores
224 favorecedores da doença (Gesteira, 2006). O uso de densidades maiores sem boas práticas de
225 manejo (Carvalho, 2005), pode levar à deterioração do ambiente aquático com acúmulo de
226 matéria orgânica que favorece a eutrofização. Elevadas densidades propiciam maior contato
227 entre os indivíduos, aumentando o risco de contaminação (Nunes et al., 2005) por meio da
228 ingestão de tecidos contaminados pelo IMNV (Graf et al., 2003). As densidades introduzidas
229 nas fazendas estudadas foram de 15 a 72, 44 camarões/m² (Tabela 2).

230 O tempo de cultivo é outra variável a ser considerada. Em se tratando de pós-larvas já
231 infectadas, adquiridas de laboratórios, quanto maior a duração do cultivo, tanto maior o risco
232 de surgimento de lesões da IMNV. Risco esse que poderá ser potencializado com falhas no
233 manejo. Em caso de presença de camarões ou tecidos contaminados por IMNV no ambiente
234 aquático, a probabilidade de ingestão de partículas virais e a conseqüente transmissão da

235 doença, também se tornam maiores em cultivos com duração maior. O tempo de cultivo nas
236 fazendas estudadas variou de 52 a 117 dias.

237

238 Tabela 2: Demonstrativo de: densidade (Dens.), tempo de cultivo (TC),
239 laboratório (Lab.), Amostras positivas (IMNV), sobrevivência (Sobrev.).

240 *Table 2: Demonstrative of: density (Dens.), raise time (TC),*
241 *laboratory (Lab.) positive sample (IMNV), survival (Sobrev.).*

Faz.	Viv.	Período	Dens.	TC(dias)	Lab.	IMNV	Sobrev.(%)
A	V1	estio	31,0	117	L2	4	55
		chuvoso	22,0	92	L4	2	46
	V2	estio	17,6	96	L2	3	60
		chuvoso	15,0	117	L4	2	62
B	V1	estio	43,3	60	L5	1	78
		chuvoso	24,7	52	L5	0	95
	V2	estio	25,0	65	L5	2	74
		chuvoso	25,0	68	L5	0	82
D	V1	estio	70,87	70	L1	3	72,7
		chuvoso	72,44	94	L3	1	62,2
	V2	estio	68,84	88	L2	3	62,9
		chuvoso	66,67	98	L4	2	52,7

242

243 Outro fator importante, aqui considerado, é a origem das pós-larvas. Pós-larvas
244 certificadas, originadas de laboratórios idôneos são importantes para minimizar a ocorrência
245 de enfermidades. Relacionando as variáveis incluídas na Tabela 2, constatou-se:

- 246 • A fazenda A que empregou as mais baixas densidades (15 a 31 cam/m²), o tempo de
247 cultivo mais prolongado (92 a 117 dias), apresentou as mais altas ocorrências de
248 IMNV (11) e as mais baixas taxas de sobrevivência (46% a 62%);
- 249 • A fazenda B com densidades (24,7 a 43,3 cam/m²), e o tempo de cultivo menor (52 a
250 68 dias), apresentou as mais baixas ocorrências de IMNV (3) e as mais altas taxas de
251 sobrevivência (74% a 95%), que estão acima das médias históricas no Brasil. É a
252 única fazenda que adquiriu pós-larvas do laboratório 5 nos dois ciclos de cultivo e
253 para ambos os viveiros;
- 254 • A fazenda D que usou as mais altas densidades (66,67 a 72,44 cam/m²) e cujo tempo
255 de cultivo variou entre 70 a 98 dias apresentou 9 ocorrências de IMNV e taxas de
256 sobrevivência entre 52,7% a 72,7%.

257 A taxa de sobrevivência se apresentou mais alta que aquela citada na literatura
258 especializada para a IMNV (ABCC, 2004; Hasson et al., 2005;).

259 Valores mínimos, máximos e médios \pm erro resultantes da sobrevivência dos cultivos e
260 densidades de estocagem durante o período pesquisado são apresentados na Tabela 3.

261

262

263

Tabela 3: Valores mínimos, máximos e médias de variáveis de manejo.

Table 3: Minimum values, maximum and averages of handling variables.

Variáveis	Valor mínimo	Valor máximo	Média ± erro
Sobrev.	46	95	67,19 ± 8,74
Dens.	15	72,44	40,72 ± 6,66

264

265

266

267

268

Ao relacionar a probabilidade de ocorrência da IMNV com as demais variáveis presentes no banco de dados da pesquisa, constatou-se que a densidade, o tempo de cultivo e a interação entre ambas interferiram significativamente na ocorrência da IMNV, como evidenciado no modelo abaixo:

269

270

$$\hat{Prob}_{(IMNV)} = \frac{0,1404 - 0,0001 \times dens \times TC}{1 - 0,0114 \times dens - 0,0096 \times TC} \quad (R^2 = 90,77\%)$$

271

272

273

274

Ao relacionar a sobrevivência dos camarões, em função de variáveis contidas no banco de dados, constatou-se que o tempo de cultivo assim como a IMNV interferiram significativamente na sobrevivência dos espécimes cultivados, como representado na função abaixo:

275

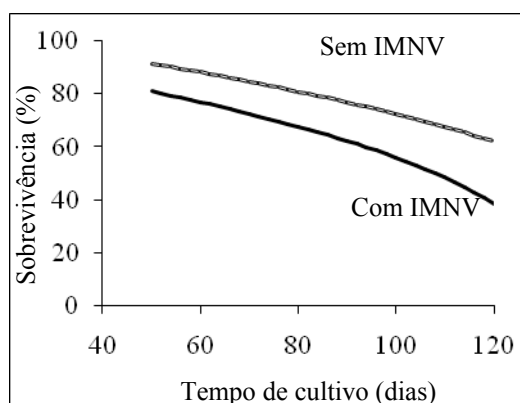
276

Evidenciou-se que um maior tempo de cultivo, na presença da IMNV, representa menor taxa de sobrevivência (Figura 3).

277

278

$$\hat{Sobrev} = (116.130,4 - 21.189,23 \times IMNV - 714,1715 \times TC)^{0,4} \quad (R^2 = 87,49\%)$$



279

280

281

282

283

284

Figura 3: Relação entre sobrevivência e tempo de cultivo na presença ou ausência da IMNV.

Figure 3: Relation between survival and raise time at the presence or absence of IMNV.

285

286

287

Exemplificando com 120 dias de cultivo, na presença da doença, a sobrevivência estimada é de aproximadamente 40%, sendo que, sem a doença e com o mesmo tempo de cultivo, a sobrevivência estimada é de aproximadamente 60%. No entanto, uma melhora no

288 manejo sanitário dos espécimes cultivados poderia refletir em um aumento de sobrevivência.
289 De uma forma geral, a presença da IMNV gerou uma redução da sobrevivência de 20%.

290 Em situações não controladas, como as de cultivo de camarão, há muitos fatores que
291 podem interferir no desempenho a depender de cada realidade específica (fazendas, viveiros).
292 Uma alteração no desempenho dos espécimes cultivados pode ser fruto da combinação de
293 diferentes fatores, difícil de ser constatada. Nas fazendas estudadas, medidas de saneamento
294 podem ter contribuído para a diminuição da IMNV no 2º ciclo. Assim, em quatro dos seis
295 viveiros em que se obtiveram os dados (Tabela 2), houve diminuição da densidade do 1º para
296 o 2º ciclo de cultivo, o que pode caracterizar uma tentativa de controle da doença, sendo que
297 nos quatro viveiros citados houve diminuição de ocorrência da IMNV. Segundo dados do
298 inquérito são adotadas medidas de assepsia/desinfecção de berçários e viveiros entre os ciclos
299 de cultivos por ocasião de manifestação de doenças. O intervalo que foi de um a quatro meses
300 entre o período de estio e o chuvoso pode ter também influenciado na diminuição da IMNV
301 no 2º ciclo (período chuvoso).

302 Além de 31 amostras com lesões sugestivas de IMNV a análise histopatológica
303 (Tabela 4) apontou, entre outros, os seguintes achados: 44 amostras com lesões sugestivas de
304 Hepatopancreatite Hemocítica (HH), 37 de Necrose Infeciosa Hipodermal e Hematopoiética
305 (IHHN), 38 de Bacteriose (B), 33 protozoários epicomensais (PE) e 25 de gregarinas (G). O
306 número destes achados, com exceção de HH, diminuiu do 1º para o 2º ciclo, o que pode
307 indicar uma possível melhora no manejo influenciando no ambiente aquático e, em
308 decorrência, na diminuição da IMNV no 2º ciclo.

309 Tabela 4: Principais achados histopatológicos durante os anos
310 de 2005 a 2006 nas quatro fazendas pesquisadas.

311 *Table 4: Main histopathological findings between the years of*
312 *2005 and 2006 on the four studied farms.*

Período	Amostras	IMNV	HH	IHHN	B	PE	G
Estio	30	20	19	20	20	20	14
Chuvoso	30	11	25	17	18	13	11
Total	60	31	44	37	38	33	25

313 Em que: IMNV- Mionecrose Infeciosa Viral, PE- protozoários epicomensais, IHHN-
314 Necrose Infeciosa Hipodermal e Hematopoiética, B- bacteriose, G- gregarina.

315 *Where: IMNV- Infectious Myonecrosis Viral, PE- epicomental protozoan, Infectious hypodermal and*
316 *haematopoietic necrosis, B- bacteriose, G- gregarine.*

317
318 Comparando resultados do exame histopatológico com os do exame a fresco verificou-
319 se que houve quatro amostras com indicação de alterações sugestivas de necrose muscular no
320 exame a fresco, confirmadas pelo exame histopatológico, porém em 27 amostras, o exame a

321 fresco não evidenciou alterações na musculatura, enquanto o exame histopatológico
322 identificou nas mesmas, lesões sugestivas de IMNV. Portanto, o exame a fresco, apesar de ser
323 muito utilizado por ser uma técnica rápida, pouco dispendiosa, necessita de complementação
324 com exames mais sensíveis como o histopatológico.

325 Do subtotal de 15 amostras, coletadas no tempo zero, dez amostras possibilitaram
326 visualização para o exame a fresco. Destas dez, nove apresentaram necrose nos túbulos do
327 hepatopâncreas o que pode ser correlacionado aos sete casos sugestivos de hepatopancreatite
328 hemocítica evidenciados pela histopatologia na primeira coleta, não havendo, em princípio,
329 suspeita da IMNV.

330 Apesar da redução alimentar e a ausência ou redução de lipídeos, entre outros, serem
331 citadas como sintomas da presença de IMNV já no berçário (Nunes et al., 2004), os dados
332 aqui obtidos pelo exame a fresco não foram suficientes para evidenciar a enfermidade naquela
333 ocasião. Confrontando os achados histopatológicos com os do exame a fresco, os dados
334 poderiam ser indicativos de baixa qualidade da água, pela detecção de protozoários
335 epicomensais (Lightner, 1997) nos camarões analisados.

336 Do total de 37 ocorrências de IHHN, 26 estavam conjugadas a IMNV. Conforme
337 Thrusfield (2004), animais cultivados em sistemas intensivos, são alvos de doenças por
338 infecção simultânea, com mais de um agente infeccioso. O vírus da IHHN é considerado
339 endêmico na carcinicultura brasileira e, apesar de não se atribuir ao mesmo, isoladamente,
340 grande impacto, ele representa um fator de risco a mais, pois provoca estresse e debilidade. A
341 desuniformidade do camarão é outra característica associada a IHHN (Barbieri Jr e Ostrensky
342 Neto, 2002), sendo que, nas amostras do 4º mês de cultivo, foi constatada pelo exame a
343 fresco, uma considerável variação dos pesos médios (4,07 g a 9,90 g).

344 A hepatopancreatite hemocítica (HH) teve a mais alta presença entre os achados
345 histopatológicos (44 no total de 60 amostras). Caracterizada por inflamação e necrose no
346 hepatopâncreas, ela pode ser ocasionada por etiologias diversas como: bactérias, toxinas,
347 rickétsias e vírus. A presença de HH, em conjunção com as outras ocorrências
348 histopatológicas pode ser indicativo de desequilíbrio do ambiente aquático. Esse desequilíbrio
349 é frequentemente apontado como causador de estresse nos camarões, tornando-os vulneráveis
350 ao IMNV (ABCC, 2004; Lima et al., 2004).

351 A presença de gregarinas, algumas vezes de forma massiva, pode agravar o estado de
352 saúde dos camarões, uma vez que, presentes no intestino destes indivíduos, competem com os
353 mesmos pelos nutrientes. A existência de lesões sugestivas de bacteriose detectadas em 38
354 amostras em conjunção a outros achados indica a necessidade de investigar a presença de

355 vibrionáceas. Cabe ressaltar que a presença de bactérias é comum tanto no camarão quanto na
356 água, sendo que em ambientes aquáticos equilibrados não costumam causar danos.

357 Os dados apresentados neste estudo parecem indicar a presença da IMNV associada à
358 interação de agentes infecciosos e fatores não infecciosos. A expressão da doença seria
359 portanto, uma provável consequência da conjunção de diferentes fatores (nem todos objeto
360 desse estudo), tais como: aqueles relacionados ao manejo: tempo de cultivo, alimentação,
361 qualidade de pós-larvas e outros, decorrentes de adversidades do meio ambiente.

362

363 **CONCLUSÕES**

364

365 Este estudo anatomopatológico caracterizou lesões que sugerem a presença da IMNV
366 em camarões cultivados das quatro fazendas estudadas.

367 Não há como afirmar se a doença foi adquirida na propriedade ou se as pós larvas já
368 vieram infectadas dos laboratórios.

369 O maior número de lesões sugestivas de IMNV, ocorreu, no 1º ciclo de cultivo
370 estudado, no período de estio.

371 O tempo de cultivo e a densidade de estocagem influenciaram significativamente
372 ($P<0,05$) na manifestação da IMNV; o tempo de cultivo e a ocorrência da IMNV interferiram
373 de forma significativa ($P<0,05$) na sobrevivência.

374 A aparente melhora de desempenho parece estar relacionada com a conjunção de
375 diferentes fatores de manejo e ambientais.

376

377 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

378

379 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO (ABCC). *Avaliação da*
380 *evolução da IMN nas fazendas de camarão da região nordeste*. [S.l], 2004. Disponível em:
381 <[http://www.abccam.com.br/download/Segunda%20parte%20Relatorio%](http://www.abccam.com.br/download/Segunda%20parte%20Relatorio%20%20IMN%20versao%20final.pdf)
382 [20%20IMN%20versao%20final.pdf](http://www.abccam.com.br/download/Segunda%20parte%20Relatorio%20%20IMN%20versao%20final.pdf) 2004b. Acesso em: 15 nov.2006.

383 BARBIERI JR, R.C.; OSTRENSKY NETO, A. *Camarões marinhos engorda*. Viçosa, MG:
384 Aprenda Fácil, 2002. 370p.

385 CARVALHO, R. *Camarões marinhos gestão de qualidade e rastreabilidade na fazenda*.
386 [S.l], 2005. 96p. Disponível em: <[http://www.abccam.com.br/download/Get%E3ode Quali](http://www.abccam.com.br/download/Get%E3ode%20Qualidade-Grande.pdf)
387 [dade-Grande.pdf](http://www.abccam.com.br/download/Get%E3ode%20Qualidade-Grande.pdf)>. Acesso em: 28 nov.2006.

- 388 FLEGEL, T.W. *et al.* Presence of multiple viruses in non-diseased, cultivated shrimp at
389 harvest. *Aquaculture*, Amsterdam, v.240, p. 55 – 68, jun. 2004.
- 390 GESTEIRA, T. C. V. Enfermidades infecciosas registradas na carcinicultura brasileira. In:
391 SILVA-SOUZA, A.T.(Org). *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá:
392 ABRAPOA, 2006. p.137-158.
- 393 GRAF, C. *et al.* Transmissão da síndrome da necrose idiopática muscular (NIM) em
394 *Litopenaeus vannamei*. *Revista da ABCC*, Recife, ano.5, n.4, p.45-47, 2003.
- 395 HASSON, K. W. *et al.* Current infectious marine shrimp diseases of concern in the United
396 States. In: SEMINAR AND WORKSHOP ON THE SUSTAINABLE MARINE SHRIMP
397 CULTURE, 1.,2005, Insheon. *Anais...* Insheon: West Sea Fisheries Research Institute, 2005.
- 398 HUMASON, G.L. *Animal tissue techniques*. 3. ed. San Francisco: W.H. Freeman and Co,
399 1972.
- 400 LAKSHMI, G.J. *et al* Effects of salinity and temperatures changes on spontaneous muscles
401 necrosis in *Penaeus aztecuz* Ives. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 13, p. 35 - 43, 1978.
- 402 LABORATÓRIO DE METEOROLOGIA DE PERNAMBUCO (LAMEPE); INSTITUTO
403 DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO (ITEP). *Chuvas (mm) observadas no período de*
404 *novembro de 2005 a setembro de 2006 em Pernambuco*. Recife: LAMEP/ITEP, 2006.
405 Disponível em:< <http://www.itep.br/meteorologia/lamepe/>>. Acesso em: 19/10/2006.
- 406 LEÇA, E. E; LEITÃO, S. N. *Determinação das possíveis causas da necrose idiopática*
407 *abdominal do camarão marinho cultivado: atividade 1 - fitoplâncton*. Recife:
408 ABCC/FADURPE, 2004. p.1-54. Disponível em:
409 <<http://www.abccam.com.br/download/fitopl%E2ncton%20ABCC.pdf>>. Acesso em: 27
410 dez.2006.
- 411 LIGHTNER, D. V. *Manual de patologia y procedimientos de diagnóstico para enfermedades*
412 *de camarones peneidos*. [S.l]: Universidad Autónoma Metropolitana 1997.
- 413 LIGHTNER, D.V. *et al.* Infectious Myonecrosis (IMN): a new vírus disease of *Litopenaeus*
414 *vannamei*. [S.l]: *Farming Intelligene Technology*, 2005.
- 415 LIGHTNER, D.V. *et al.* Different Viruses cause Myonecrosis in Cultured *Litopenaeus*
416 *vannamei* from Brazil and Belize: Gross Signs and Histopathology. In: INTERNATIONAL
417 SYMPOSIUM AQUATIC ANIMAL HEALTH, 5., 2006, San Francisco. *Abstracts...* San
418 Francisco : [s.n], 2006.
- 419 LIMA, A.S. *et al.* *Vibrio* spp. em amostras de camarões, solo e água de fazendas de camarão
420 nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. In: ENCONTRO NACIONAL DE
421 MICROBIOLOGIA AMBIENTAL-ENAMA, 9., 2004, Curitiba. *Anais...* Curitiba: SBMC,
422 2004. p.117.

- 423 LUNA, L.G. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of
424 pathology. New York: Mcgraw-Hill, 1968. p. 258.
- 425 MARTINS, P. C. C. Cultivo de camarão marinho. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). *Sanidade*
426 *de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá: ABRAPOA, 2006. p 121-135.
- 427 MENDES, P. P. *Estatística aplicada a carcinicultura*. Recife: Bargaço, 1999. 265 p.
- 428 MENDES, P. P. *et al.* Análise estatística dos parâmetros aquícolas, com fins a otimização da
429 produção. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,43.,
430 João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: SBZ, 2006. v.35.
- 431 NUNES, A. J. P. Carcinicultura Ameaçada. *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, v.14,
432 p.37-57, maio/jun. 2004.
- 433 NUNES, A. J. P. *et al.* *Princípios para boas práticas de manejo na engorda de camarão*
434 *marinho no estado do Ceará*. Fortaleza: UFC, 2005. 109p.
- 435 OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). International Committee. *Report of*
436 *the meeting of the OIE aquatic animal health standards commission*. Paris, 2006. Disponível
437 em : <http://www.oie.int/downld/SC/2006/A_AAC_MARCH2006.pdf>. Acesso em: 26
438 dez.2006.
- 439 PEREIRA, A. M. L.; SANTOS, M. L. Relatório do treinamento em patologias de camarões
440 marinhos realizado no instituto tecnológico de Sonora. Parnaíba: ITS, 2003.p. 19 - 29.
- 441 PINHEIRO, A. C. A. S. Investigação dos vírus da síndrome de taura e da mionecrose
442 infecciosa em cultivos de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em Pernambuco. 2006.
443 64f. *Dissertação* (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal
444 Rural de Pernambuco, Recife.
- 445 POULOS, B. T. *et al.* Different viruses cause myonecrosis in cultured *Litopenaeus vannamei*
446 from Brazil and Belize: characterization of the etiologic agents and molecular methods for
447 detection. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AQUATIC ANIMAL HEALTH, 5.,
448 2006, San Francisco. *Abstracts...*, San Francisco: [s.n], 2006.
- 449 RIGDON, R. H; BAXTER, K. N. Spontaneous necrosis in muscle of brown shrimp *Penaeus*
450 *aztecus* Ives. *Trans.Amer.Fisch.Soc.*, Galveston, v.99, p.583-587, 1970.
- 451 SANTANA, W. M. *et al.* O vírus da mionecrose infecciosa (IMNV): uma nova enfermidade?.
452 JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE, 4., 2004, Recife. *Anais...*,
453 Recife: [s.n], 2004. 1 CD-ROM.
- 454

- 455 SENAPIN, S. *et al.* Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia
456 confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method.
457 *Aquaculture*, Amsterdam, fev. 2007. 7p.
- 458 TANG, K. F. J. *et al.* Infectious myonecrosis virus infection in *Litopenaeus vannamei*,
459 *Litopenaeus stylirostris*, and *Penaeus monodon*. In: WORLD AQUACULTURE 2003,
460 Salvador. *Abstracts...* Baton Rouge: World Aquaculture Society, 2003. p.22.
- 461 THRUSFIELD, M. *Epidemiologia veterinária*. São Paulo: Roca, 2004. 556 p.
- 462 TUNG, C.W. *et al.* Histological and electron microscopic study on *Macrobrachium* muscle
463 virus (MMV) infection in the grand freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (the man),
464 cultured in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*, Taiwan, v.22, p. 319-323, 1999.
- 465

5. Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO (ABCC). **Censo da camarinicultura 2004**. [S.l], 2004a. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/TABELAS%20CENSO%20SITE.pdf>>. Acesso em: 10 set 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO (ABCC). **Avaliação da evolução da IMN nas fazendas de camarão da região nordeste**. [S.l], 2004b. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/download/Segunda%20parte%20Relatorio%20%20IMN%20versao%20final.pdf>> 2004b. Acesso em: 15 nov.2006.

BARBIERI JR, R.C.; OSTRENSKY NETO, A. **Camarões marinhos engorda**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2002. 370p.

BARRACO, M.A. Mecanismos de resistência a doenças em crustáceos. In: RANZINI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.L.A. (Org). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p.51-54.

BELL, T.A.; LIGHTNER, D.V. An outline of penaeid shrimp culture methods including infectious disease problems and priority drug treatments. **Veterinary and human toxicology**, Manhattan, v.29, n 1, p. 37-43, 1987. Suplemento.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; MOLIN, R. Cianobactéria invasora. **Revista biotecnologia, ciência e desenvolvimento**, n.30, p.82-89, jan/jun. 2003.

CHING, C.A. Los hemacitos, células de defesa contra las enfermedades, del camarón marino. **Boletín Nícovita**, v.10, n.1, enero/marzo, 2005.

COUCH, J.A. Diseases, parasites and toxic responses of commercial penaeid shrimp of the Gulf of Mexico and South American Coasts of North America. **Fishery Bulletin**, Washington, U.S, v.76, n.1, p.1-44, 1978.

FLEGEL, T.W. et al. Presence of multiple viruses in non-diseased, cultivated shrimp at harvest. **Aquaculture**, Amsterdam, v.240, p. 55 – 68, jun. 2004.

FROTA, I.L.N. **Análise dos determinantes da vantagem competitiva da carcinicultura Nordestina**. 2005. 112f. Dissertação (Mestrado em Administração) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

GESTEIRA, T. C. V. Enfermidades infecciosas registradas na carcinicultura brasileira. In: SILVA-SOUZA, A.T.(Org). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. p.137-158.

GRAF, C. et al. Transmissão da síndrome da necrose idiopática muscular (NIM) em *Litopenaeus vannamei*. **Revista da ABCC**, Recife, ano.5, n.4, p.45-47, 2003.

HASSON, K. W.; FAN, Y.P.; VARNER, P.W. Current infectious marine shrimp diseases of concern in the United States. In: SEMINAR AND WORKSHOP ON THE SUSTAINABLE MARINE SHRIMP CULTURE, 1.,2005, Insheon. **Anais...** Insheon: West Sea Fisheries Research Institute, 2005.

JOHNSON, S.K. **Handbook of shrimp diseases**. Galveston: Texas A & M University, 1989. p 25.

JONES, T.H; HUNT, R.D; KING, N.W. **Patologia veterinária**. 6. ed. Barueri: Manole, 2000. 1415p

LE MOULLAC, G; HAFFNER, P. Environmental factors affecting immune responses in crustacea. **Aquaculture**, Amsterdam, v.19, n.1, p. 121 - 131, 2000.

LEÇA, E. E; LEITÃO, S. N. **Determinação das possíveis causas da necrose idiopática abdominal do camarão marinho cultivado: atividade 1 - fitoplâncton**. Recife: ABCC/FADURPE, 2004. p.1-54. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/download/fitopl%E2ncton%20ABCC.pdf>>. Acesso em: 27 dez.2006.

LENOCH, R. Avaliação do risco epidemiológico da carcinicultura catarinense usando como modelo a síndrome de taura e a doença da mancha branca. 2004. 86f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

LIGHTNER, D. V.; PANTOJA, C. R. **Bioseguridad en el cultivo de camarones**. Tucson: Universidad de Arizona, 2001. p.123 -159.

LIGHTNER, D. V.; PANTOJA, C. R. Infectious myonecrosis (IMN): current status report in the biology of the etiological agent and development of diagnostic methods. In: FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO, 2004, Natal. **Anais...** Natal, 2004. p 40.

LIGHTNER, D. V. **Manual de patologia y procedimientos de diagnóstico para enfermedades de camarones peneidos**. [S.l]: Universidad Autónoma Metropolitana 1997.

LIGHTNER, D.V. Diseases of cultured penaeid shrimp. In: MCVEY, J.P. **CRC Handbook of Mariculture: crustacean aquaculture**. Boca Raton: CRC Press, 1983, v.1, p.239-320.

LIGHTNER, D.V. et al. Infectious Myonecrosis (IMN): a new virus disease of *Litopenaeus vannamei*. [S.l]: **Farming Intelligene Technology**, 2005.

LIGHTNER, D.V. et al. Different Viruses cause Myonecrosis in Cultured *Litopenaeus vannamei* from Brazil and Belize: Gross Signs and Histopathology. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM AQUATIC ANIMAL HEALTH, 5., 2006, San Francisco. **Abstracts...** San Francisco : [s.n], 2006.

LIGHTNER, D. V. **Aquaculture pathology laboratory assist shrimp industry**. Arizona, College of Agriculture and Life Sciences, 2005. Disponível em: < http://ag.arizona.edu/impacts/1_6.html >. Acesso em 22 jan.2006.

LISBOA FILHO, W.; CARLINI JUNIOR, R. J. A. Carcinicultura na região nordeste: uma promissora alternativa de diversificação econômica. **Cadernos da FACECA**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 65 - 78, jan./jun., 2004.

MACHADO, Z. L. **Camarão marinho, cultivo, captura conservação, comercialização**. 2. ed. Recife: SUDENE, 1998. 250 p.

MARQUES, M. R. F.; MOSER, J. R.; MÜLLER, I. C. Virologia de crustáceos e métodos moleculares de diagnóstico. In SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. p. 159-184.

MARTINS, P. C. C. Cultivo de camarão marinho. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. p 121-135.

NUNES, A.J.P; MARTINS, P. C. Avaliando o estado de saúde de camarões marinhos na engorda. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.12, p.23-33, jul/ago. 2002.

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

ODEBRECHT, C. et al. **Relatório técnico da análise quantitativa e qualitativa de fitoplâncton em fazendas de cultivos de camarão**. Rio Grande: FURG, 2003.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). International committee. **Report of the meeting of the Bureau of the OIE aquatic animal health standards commission**.

Paris, 2004. Disponível em:

<[http://www.oie.int/aac/eng/FDC%20reports/Oct%202004%20report%20\(english\).pdf](http://www.oie.int/aac/eng/FDC%20reports/Oct%202004%20report%20(english).pdf)>. Acesso em: 21 dez.2006.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). International Committee. **Report of the meeting of the OIE aquatic animal health standards commission**. Paris, 2006.

Disponível em : <http://www.oie.int/downld/SC/2006/A_AAC_MARCH2006.pdf>. Acesso em: 26 dez.2006.

ORMOND, J.G.P. et al. **A carcinicultura brasileira**. Rio de Janeiro: BNDES Setorial, n.19, 2004. p.91-118.

OSUMA, F.P. **Camaronicultura y medio ambiente**. México: Instituto de Ciencias del Mar y Limnologia, 2001. p. 284-285.

PEREIRA, A. M. L.; SANTOS, M. L. Relatório do treinamento em patologias de camarões marinhos realizado no instituto tecnológico de Sonora. Parnaíba: ITS, 2003.p. 19 - 29.

PEREIRA, A. R. **Patologias de camarões marinhos**. [S.l], 2002. p. 57. Apostila.

PINHEIRO, A. C. A. S. Investigação dos vírus da síndrome de taura e da mionecrose infecciosa em cultivos de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em Pernambuco. 2006. 64f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

POULOS, B. T. et al. Different viruses cause myonecrosis in cultured *Litopenaeus vannamei* from Brazil and Belize: characterization of the etiologic agents and molecular methods for detection. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AQUATIC ANIMAL HEALTH, 5., 2006, San Francisco. **Abstracts...**, San Francisco: [s.n], 2006.

RICHARD JR, L. **Modelo para implementação de sistema integrado de gestão ambiental para a carcinicultura marinha**. 2006. 179f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ROCHA, I. P.; MAIA, E. P. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento da carcinicultura marinha brasileira. **Anais do Aquicultura Brasil**. Recife, v.1, p. 213-235, 1998.

ROCHA, I. P. **A indústria brasileira do camarão cultivado**. Salvador, 2003. Palestra apresentada no Seminário Internacional sobre a Indústria do camarão. Disponível em: <<http://www.meraquacultura.com.br/arquivos/A%20Industria%20Brasileira%20Camarao%20Cultivado.pdf>> . Acesso em: 10 set.2005.

RODRIGUES, J. Carcinicultura marinha desempenho em 2004. **Revista da ABCC**, ano 7 n.2, p.38 – 44, jun.2005.

SANTANA, W. M. et al. O vírus da mionecrose infecciosa (IMNV): uma nova enfermidade?. JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE, 4., 2004, Recife. **Anais...**, Recife: [s.n], 2004. 1 CD-ROM.

SENAPIN, S; PHEWSAIYA, K; BRIGGS, M; FLEGEL, T.W. Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. **Aquaculture**, Amsterdam, fev. 2007. 7p.

SNIESKO, S.F. Diseases of fish and their control in the U.S. In: _____. **The two lakes fifth fishery management training course report**. London: Jansen, 1973. p.55-66.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia veterinária**. São Paulo: Roca, 2004. 556 p.

TUNG, C.W; WANG, C.S; CHEN, S.N. Histological and electron microscopic study on *Macrobrachium* muscle virus (MMV) infection in the grand freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (the man), cultured in Taiwan. **Journal of Fish Diseases**, Taiwan, v.22, p. 319-323, 1999.

Anexos

Questionário RECARCINE

RECARCINE – SUB-REDE ENFERMIDADES
Conjunção de fatores relacionados com a incidência da Infecção
Hipodermal e Necrose Hematopoiética em camarões marinhos cultivados.

1. IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE

Nome	
Proprietário	
Endereço	
Localização	
Tamanho	
Estuário	
Nível de Poluição	
Tempo de funcionamento	
Técnico responsável	

2. MANEJO**2.1. Aquisição de pós-larvas**

Local de aquisição	
Idade	
Época da aquisição	
Teste de qualidade	
Tempo de transporte	
Deteção de anomalia	

2.2. Tanque berçário

a) Tamanho	
b) Densidade de estocagem	
c) Alimento	
d) Frequência alimentar	
e) Fertilizantes	
f) Medicamentos	
g) Tempo de cultivo	
h) Sobrevivência	
i) Aeração (HP/tanque)	

2.3. Viveiro de engorda

a) Tamanho	
b) Densidade de estocagem	
c) Renovação de água (taxa)	
d) Fertilizantes Tipo/Freqüência	
e) Calagem Tipo Freqüência	
f) Alimento	
g) Forma de arramento	
h) Freqüência alimentar	
i) Comedouro/ha	
j) Probiótico	
k) Imunoestimulante	
l) Medicamentos	
m) Tempo de cultivo	
n) Sobrevivência	
o) Aeração (HP/viveiro)	

2.4. Controle de parâmetros físico-químicos

Parâmetros	Diário	Semanal	Quinzenal	Mensal
a) Oxigênio				
b) Temperatura				
c) pH				
d) Salinidade				
e) Transparência				
f) Amônia				
g) Nitrito				
h) Nitrato				
i) Fósforo				
j) N Total				
k) DBO				
l) Sólidos em suspensão				

2.5. Controle de parâmetros biológicos

Parâmetros	Diário	Semanal	Quinzenal	Mensal
Fitoplâncton				
Zooplâncton				
Bacteriológico				

2.6. Acompanhamento

2.6.1. Biometria

a) Freqüência	
b) Destino amostrados	
c) Método	

2.6.2. Aspectos sanitários

a) Análise	
b) Frequência	
c) Destino animais doentes	
d) Muda	
e) Mortalidade	

2.6.3. Biossegurança

a) Higienização dos equipamentos	
b) Controle de fluxo	
c) Presença de animais domésticos	
d) Controle de pragas	
e) Rodolúvio	
f) Pedilúvio	
g) EPI	

2.7. Assepsia/Desinfecção

2.7.1. Berçário

a) Frequência	
b) Forma de aplicação	
c) Produtos	

2.7.2. Viveiro

d) Frequência	
e) Forma de aplicação	
f) Produtos	

2.8. Tratamento de água

2.8.1. Abastecimento

a) Captação	() Dependente da maré	() Independente da maré
b) Tratamento/tipo do afluente		
c) Sistema (circuito)	() Aberto	() Fechado

2.8.2. Drenagem (Tratamento)

a) Lagoa de estabilização	
b) Canal	

2.9. Parâmetros Zootécnicos

a) Taxa de sobrevivência	
b) Fator de conversão alimentar	
c) Peso médio	
d) Tempo médio de cultivo	

e) Produtividade	
f) Incidência de enfermidades	

3. SANIDADE (IMNV)

a) Detecção de IMNV	
b) Época do surgimento	
c) Prejuízos causados	
d) Viveiros afetados	
e) Medidas adotadas	

OBSERVAÇÕES

Normas para Publicação no periódico *Acta Scientiarum Biological Sciences*

Acta Scientiarum. Biological Sciences INSTRUÇÕES PARA AUTORES

- Acta Scientiarum. Biological Sciences* ISSN 1679-9283, é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
- A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes de Ciências Biológicas, incluindo anatomia, bacteriologia, biologia e fisiologia dos microorganismos, biologia geral, biologia molecular, bioquímica, botânica, citologia e biologia celular, comportamento animal, ecologia, embriologia, fisiologia, genética, histologia, microbiologia, morfologia, parasitologia e zoologia.
- Os autores se obrigam a declarar que seu manuscrito, relatando um trabalho original, não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outra revista.
- Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
- Os artigos são publicados em português ou inglês. Devem ser concisos e consistentes no estilo. As idéias e os conceitos emitidos

representam unicamente as opiniões do(s) autor(es).

6. Os artigos serão avaliados por dois consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e será rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis. No caso de um parecer favorável e um desfavorável, a decisão sobre a publicação ou não do artigo será do Conselho Editorial.

7. Estão listados abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

a) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chaves, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos (Opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

b) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.

c) Deverão ser indicados os nomes completos dos autores (sugere-se no máximo seis

autores), seus endereços e o autor para correspondência (incluindo o e-mail deste).

d) O resumo (bem como o abstract), não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão, não devendo ser carregados com números. Até seis palavras-chave deverão ser acrescentadas no final, tanto do resumo como do abstract.

e) Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *MS-Word*, ou compatível, utilizando Times New Roman fonte 12.

f) O trabalho deverá ser impresso em A4 e a margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.

g) Para serem submetidos aos consultores, os artigos deverão ser enviados em três cópias impressas, duas delas, sem a identificação de autoria, acompanhados de disquete (3^{1/2} polegadas).

h) Tabelas, Figuras e Gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados. Deverão ser bilíngües (português e inglês), sendo a parte em inglês

digitada em itálico e em tamanho menor (TNR 10-11).

- i) As Figuras e as Tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura, e não deverão ultrapassar 16 cm.
- j) As Figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução. Ilustrações em cores não serão aceitas para publicação.
- k) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- l) As equações deverão ser editadas utilizando software compatível com o editor de texto.
- m) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- n) As referências bibliográficas deverão ser organizadas em ordem alfabética, conforme os exemplos seguintes (ABNT).
Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (1980) ou (Lopes, 1980). Para dois autores, utilizar *e* (Lopes e Silva, 1990); para mais de dois autores, utilizar *et al.*

Livro

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. *Introduction to quantitative genetics*. Edinburgh: Addison Wesley Longman, 1996. 464p.

GALLO, D. *et al.* *Manual de entomologia agrícola*. 2. ed. São Paulo: Ceres, 1988.

Capítulo de Livros

PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A.R.P. (Ed.). *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo: Manole, 1991. cap. 3, p. 9-65.

Monografia, Dissertação e Tese

ASSIS, M.A. *Digestibilidade in vitro, degradabilidade in situ e composição química de gramíneas do gênero Cynodon submetidas ou não a adubação nitrogenada*. 1997. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)–Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1997.

COSTA, A.R.G. *Parâmetros bioquímicos do zooplâncton no reservatório da Pampulha: comparação de métodos de determinação protética*. 1994. Monografia (Especialização em Ciências Biológicas)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994.

Artigos

Os artigos indexados devem ser abreviados de acordo com a “*World List of Scientific Periodicals*”.

RHOADES, M.M.; DEMPSEY, E. On the mechanism of chromatin loss induced by B chromosome. *Genetic*, Bethesda, v. 71, n. 1, p. 73-96, 1970.

FIALHO, E.T. *et al.* Determinação dos valores de composição química e de digestibilidade de alguns ingredientes nacionais para suínos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 12, n. 2, p. 337-356, 1983.

Anais

KUMAR, A. O milheto como cultura granífera para ração. *In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MILHETO*, 1, 1999. Brasília. *Anais...* Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa/Planaltina), 1999. p. 113-130.

Jornais

COUTINHO, W. O Paço da cidade retorna ao seu brilho barroco. *Jornal do Brasil*, Rio de Janeiro, 6 mar. 1985. Caderno B, p. 6.

MINISTÉRIO proíbe fabricação e uso de agrotóxico à base de organoclorados. *Folha de S.Paulo*, São Paulo, 3 set. p. 25, 1985.

Documentos eletrônicos

ROUSH, W. *Med student's web diary issues damning indictment of teaching hospitals*. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <http://www.ebooknet.com/story.jsp?id=911>. Acesso em : 21 jul. 2000.

É sugerido que seja feita consulta a uma edição recente (2006) da *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, para verificar o formato dos artigos.

8.Os artigos deverão ser enviados para:

Dr. Fábio Amodêo Lansac-Tôha

Editor-Chefe - Acta Scientiarum

Universidade Estadual de Maringá - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.