



Estudio de la Presencia de IHHNV en Post larvas de *Penaeus vannamei* Bajo Dos Sistemas de Producción con Estatus Identificado de sus Progenitoras

Ricardo Marcillo ⁽¹⁾, Marcelo Muñoz ⁽¹⁾

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar ⁽¹⁾

Escuela Superior Politécnica del Litoral ⁽¹⁾

Campus Gustavo Galindo, Km 30,5 vía Perimetral, Apartado 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador⁽¹⁾

rialmarc@espol.edu.ec, mmunoz@espol.edu.ec. ⁽¹⁾

Resumen

*El Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV) es un virus cuya infección causa altas mortalidades en *L. stylirostris* y el síndrome de la deformidad del rostro (RDS) en *Penaeus vannamei*. Causando pérdidas económicas significativas al sector acuícola.*

El objetivo de este trabajo fue identificar una relación directa entre la prevalencia de IHHNV en reproductores hembras cultivados en Chongon y su progenie a nivel de post larvas 14. Las cuales fueron cultivadas en dos sistemas de producción ubicados en las costas de Mar Bravo y San Pablo, Ecuador.

Se analizaron dos lotes con una diferencia de producción de 60 días en promedio, totalizando: 72 reproductoras y 200 post larvas. La prevalencia de IHHNV fue evaluada, mediante el sistema simple de detección PCR.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.5$) con un coeficiente de correlación $r = 0.99592$, entre la prevalencia de su progenitora con respecto a su progenie, lo que sugeriría una probable transmisión vertical. Sin embargo, mas estudios se requieren para determinar cuál es el aporte de sus progenitores hacia su progenie.

Palabras Claves: IHHNV, RDS, PCR.

Abstract

*The disease of the Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) causes high mortality rate in *L. stylirostris* and also Runt – Deformity Syndrome (RDS) in *Penaeus vannamei*. This affects in a significant way to the economy of the fishery sector.*

The objective of this work was to identify a direct relation between the prevalence of IHHNV in reproductive females worked in Chongon and its lineage concerning post larvae 14. Both were cultivated in two production systems located in the coasts of Mar Bravo and San Pablo, Ecuador.

Two lots with a difference of production of 60 days in average were analyzed, totalizing: 72 reproducers and 200 post larvae. The IHHNV prevalence was evaluated, by means of the simple system of detection PCR.

Were significant differences ($p < 0.5$) with a correlation coefficient $r = 0.99592$, between the prevalence of its parent with respect to its lineage, which would suggest a probable vertical transmission. Nevertheless, more studies are required to determine which the contribution of its ancestors towards its lineage is.

1. Introducción

El cultivo de camarón blanco *Penaeus vannamei* tuvo sus inicios en la década de los '70. Este sector productivo ha tenido que soportar la aparición de diversos agentes patógenos y los virus han sido los causantes de las más devastadoras pandemias a nivel mundial [1].

El sector camaronero se inclinó por programas de “mejoramiento genético” debido a los bajos rendimientos en producción que se dieron desde la aparición del Síndrome Viral de la Mancha Blanca, WSSV (por sus siglas en inglés). La crisis que vivió el sector durante este período los obligo a realizar cambios en los sistemas de producción; Menor recambio, menor densidad de siembra y la domesticación de la especie para evitar el uso de larva silvestre y mejorar la especie genéticamente [2]. Actualmente las maduraciones están trabajando con líneas de especies domesticadas llevando programas de selección masal de animales de piscinas de engorde Fase A y transferidos a piscinas de levantamiento de reproductores Fase B donde las densidades en las que se los mantienen son menores.

Con una selección masal y entremezclando diferentes familias, se logra obtener progenies con mayor rendimiento en crecimiento y cierta resistencia a enfermedades [3]. Existe la posibilidad cuando se utilizan sistemas de selección masal (utilizando animales de mayor crecimiento en piscinas comerciales) en *P. vannamei* es la pérdida de información genética. Este hecho se encuentra relacionado con el probable cruce que podría existir entre individuos emparentados, denominado como consanguinidad o endogamia. Esto podría producir que aparezcan caracteres letales los cuales se verán reflejados en niveles bajos de producción [4 y 5].

Una vez superados los problemas ocasionados por las pandemias virales los esfuerzos de la industria camaronera para evitar otro embate viral están encaminados en la generación de líneas o familias de cierto valor agregado sanitario. Esta problemática los ha llevado a la generación de líneas libres de patógenos potencialmente peligrosos, para evitar que pongan en riesgo sus producciones. De esta manera, podemos indicar que las piscinas dedicadas a la cría y engorde de este crustáceo han presentando problemas en lo referente a crecimiento y rendimiento, los mismos que han sido relacionados con el Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa, IHNV (por sus siglas en inglés).

Las infecciones por IHNV son más graves en *Litopenaeus stylirostris* donde el virus puede ocasionar mortalidades superiores al 90% [6]. En el cultivo de *P. vannamei*, la infección se encuentra marcada por animales que presentan el Síndrome del

Enanismo y Rostrum Deforme, RDS (por sus siglas en inglés); cuyas características son:

1. Deformidades cuticulares (principalmente antenas rugosas o rotas, rostrum, y segmentos abdominales).
2. Bajo crecimiento, incrementando la tasa de conversión alimenticia, generando disparidad de tallas al momento de la cosecha; y finalmente esto se verá reflejado en una reducción de los márgenes de utilidad esperados por piscina [7].

El presente estudio tiene por objetivo determinar el efecto de la prevalencia del virus IHNV de las progenitoras sobre la prevalencia en su progenie (post larva 14) bajo dos sistemas de producción comercial. Para este efecto se utilizo como técnica de diagnóstico; el sistema simple de detección por Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR (por sus siglas en ingles).

2. Materiales y Métodos

2.1. Material Biológico

2.1.1. Obtención Reproductores Ambos lotes provienen de especies domesticadas, el levantamiento de los mismos se lo realizó en una camaronera ubicada en la zona de Chongón - Guayas - Ecuador.

La trazabilidad de los lotes: B-21 y LGP-6 se encuentra resumida en las tablas No. 1 y 2.

Tabla 1. Trazabilidad lote B-21.

Fase	D (a/Ha)	Pd	X _O (g)	S (%)	X _F (g)
Rac	850.000*	3	0,003	92,89	0,004
Prec	262.000	17	0,004	73,87	0,16
FA	76.764	117	0,16	20,16	21,20
FB	7.143	54	22,5	76,00	33,00

Fuente: Trazabilidad OMARSA – Chongon, 2.008; D = Densidad; Pd = Permanencia en días; X_O = Peso Promedio inicial; S = Supervivencia; X_F = Peso promedio final; Rac = Raceway; * = post larvas/raceway; Prec = Precriadero; FA = Fase A; FB = Fase B.

Tabla 2. Trazabilidad lote LGP-6.

Fase	D (a/Ha)	Pd	X _O (g)	S (%)	X _F (g)
Rac	315.000*	10	0,007	62,08	0,02
FA	48.653	158	0,02	40,15	22,50
FB	6.563	45	24,00	91,90	37,00

Fuente: Trazabilidad OMARSA – Chongon, 2.008; D = Densidad; Pd = Permanencia en días; X_O = Peso Promedio inicial; S = Supervivencia; X_F = Peso promedio final; Rac = Raceway; * = post larvas/raceway; Prec = Precriadero; FA = Fase A; FB = Fase B.

La aclimatación, ablación y formación de tanques de producción se lo realizo a los 11 y 17 días subsiguientes a la recepción de los reproductores, para los lotes B-21 y LGP-6, respectivamente.

En la selección de hembras los tanques y días de producción, número de hembras por tanque y los tanques de desove en los cuales fueron colocadas las hembras, del primer y segundo bioensayo se muestran en las Tablas No. 3 y 4, nótese que los lotes tenían en promedio una diferencia de 60 días de producción.

Tabla 3. Bioensayo 1: tanque y días de producción, numero de hembras y numero de tanque de desove por lote.

Lote	Tanque	Días	No. hembras	Tanque desove
B-21	11	84	6	18
	17	83	6	18
	24	82	6	17
	29	83	6	17
LGP-6	12	23	6	19
	23	23	6	20
	30	24	6	20
	42	22	6	19

Tabla 4. Bioensayo 2: tanque y días de producción, numero de hembras y numero de tanque de desove por lote.

Lote	Tanque	Días	No. hembras	Tanque desove
B-21	17	95	6	19
	29	95	6	19
LGP-6	12	35	6	20
	23	35	6	20

Se tomó 6 hembras con grado 5 de madurez gonadal por tanque; el desove ocurrió en tanques de 600litros, colocando 12 hembras/tanque.

Al momento de devolución de hembras, cosecha, desinfección y aclimatación de huevos, se muestreo un pleópodo por hembra, fijándolo en tubos 1,5ml con 700ul de etanol al 100%, para su posterior análisis y fueron identificadas con un anillo para evitar que una misma hembra desove en los dos bioensayos.

2.1.2. Obtención de Post larvas. La eclosión ocurrió en tanques de 400litros, manteniendo una temperatura de 30°C, a una salinidad de 30ppt; La larvicultura fue realizada en dos zonas geográficas diferentes, el primer bioensayo se lo realizó en Mar Bravo y el segundo fue en San Pablo; la densidad de siembra se mantuvo en 320 nauplios por litro y se utilizó el mismo protocolo de producción. Por cada lote se colectó 50 post- larvas 14 las cuales fueron fijadas en tubos de 1,5ml con 700ul de etanol al 100%.

2.2. Determinación del Tamaño de las Muestras

En lo referente a progenitoras se muestreo el 100% de hembras desovadas.

Para el bioensayo 1 el lote B21 tenia una población de 181 hembras de las cuales se muestreo el 13.26%; en cambio para el lote LGP6 habían 184 hembras de las cuales se muestreo el 13.04%.

Para el segundo bioensayo, el lote B21 tenia 84 hembras muestreando el 14.29%, y LGP6 81 tenia hembras de donde se muestreo el 14.81%.

En cuanto a las post larvas se partió de la premisa de que nuestra población era infinita y dado que desconocemos de estudios previos el valor correspondiente a p lo llevamos al máximo permisible, es decir, 0,5 con un 95% de confianza utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2}$$

$Z_{\alpha/2} = 1.962$ (ya que el nivel de confianza es 95%)

p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)

q = 1 – p (en este caso 1 – 0.05 = 0.95)

n = tamaño de la muestra (en este caso 50 post-larvas)

d = precisión (variable desconocida)

2.3. Protocolo de Extracción de ADN

Una vez obtenidas todas las muestras del presente estudio, éstas fueron mantenidas a -20°C en etanol 100%, las mismas que siguieron el siguiente protocolo de extracción de ADN.

Descarte del etanol 100%, seguido de un lavado en solución salina con 500µl de NaCl 0.85% durante 5 minutos. Posteriormente, se colocaba 200 µl de lysis buffer -0.01M NaOH, S.D.S. 0.025%- se dejaba actuar a la mezcla por 30 minutos para desintegrar el tejido. Al cabo de este tiempo, se procedía a macerar y extraer restos de exoesqueleto, en caso de que fuere necesario.

En cada tubo se colocaba seguros tipo caballero, para llevar las muestras a baño maría, aproximadamente 95°C durante 10 minutos. Las muestras fueron centrifugadas en una Eppendorf Centrifuge 5417c y llevadas a 13.000rpm por 10 minutos. Previamente se ponían en congelación tubos de 1,7ml con 300µl de etanol 95%, para transferir 150µl del sobrenadante obtenido en la primera centrifugación. Se agitaban los tubos para conseguir una buena mezcla y se ponían en un congelador Dual Function Whirlpool por 5 minutos.



Las muestras eran llevadas a una segunda centrifugación a 13.000rpm por 5 minutos, de esta manera se obtenía la presencia de un sedimento. Sin tocarlo se realizaron lavados con etanol helado. Los tubos tenían una tercera centrifugación a 13.000rpm por 5 minutos, se descartaba por completo el etanol 70% y se los secaba a temperatura ambiente durante 45 minutos para evaporar por completo la presencia de etanol.

Finalmente, las muestras eran re-suspendidas con agua ultra pura utilizando de 50 a 70 μ l, los tubos se los colocaba en un agitador Fisher Vortex Genie 2 durante 20 minutos, centrifugados a 13.000rpm por 5 segundos y almacenados en un congelador a -20°C , para su posterior análisis.

2.4. Sistema de Detección por Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR)

Se seleccionó el sistema de detección simple, puesto que para efectos del estudio la sensibilidad e intensidad de los productos de amplificación eran lo suficientemente confiables.

2.4.1. Iniciadores. En estudios previos, para el diseño de los iniciadores se partió del genoma del virus con número de referencia del *Gen Bank* AF218266.

Para el segmento seleccionado se utilizaron los iniciadores forward (5'AAT TCG ACG CTG CCA ATG AT 3') y reverse (5'GCC AAT GTT ACG TCG GCT TC 3'), que amplificaban un producto de 345pb. Estos iniciadores fueron sintetizados por Invitrogen.

2.4.2. Mezcla de reacción. Se elaboró la siguiente mezcla de reacción: 2 μ l de 1x buffer PCR -20mM Tris-HCL, 50mM KCl-; 0,6 μ l de MgCl_2 -1.5mM-; 0,4 μ l de dNTPs -0,2mM-; 1 μ l de cada uno de los iniciadores -0,5 μ M-; 0,2 μ l de *Taq* (invitrogen) polimerasa -1UI/ μ l-; 13,8 μ l de agua ultra pura y 1 μ l de ADN objetivo alcanzando un volumen final de reacción de 20 μ l.

2.4.3. Programa del Termociclador. La programación en el termociclador fue: 1 ciclo (desnaturalización 95°C por 3 minutos), 41 ciclos (desnaturalización 95°C por 30 segundos; hibridación a 58°C por 30 segundos; y polimerización a 72°C por 1 minuto), 1 ciclo (polimerización a 72°C por 3 minutos) y un ciclo final de temperatura de incubación a 10°C indefinidamente.

2.5. Electroforesis

Una vez amplificados los productos del ADN, la visualización de cada una de las muestras, fueron resueltas por electroforesis en geles de agarosa 1,2%, teñidos con Bromuro de Etidio (0.5mg/ml).

Finalmente los amplicones de ADN eran observados en una habitación oscura por exposición del gel a radiación UV, cada uno de los geles fue fotografiado para su posterior análisis.

3. Resultados

Los métodos utilizados en el laboratorio de BIOGEMAR, fueron adecuados para el diagnóstico de IHHNV, obteniéndose pocos artefactos. Los casos artefactuales fueron a su vez vueltos a evaluar en el laboratorio, con el fin de eliminar las amplificaciones imprecisas.

La regla de decisión para determinar la infección o no del virus era la presencia de una banda aproximadamente a 345pb; ya que este es el tamaño de la región del genoma de IHHNV a ser detectada.

3.1. Prevalencia en Progenitoras

Con la finalidad de determinar la prevalencia de progenitoras, una muestra representativa de las hembras post desove fue seleccionada para obtener el material biológico para su evaluación por PCR. El tejido seleccionado como material biológico (pleópodos del sexto segmento abdominal) fue sometido a pruebas de PCR simple para la detección del virus de IHHNV.

3.1.1. Bioensayo 1. Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote B21, demostraron que 20 de los 24 progenitores hembras se encontraban infectados con el virus IHHNV.

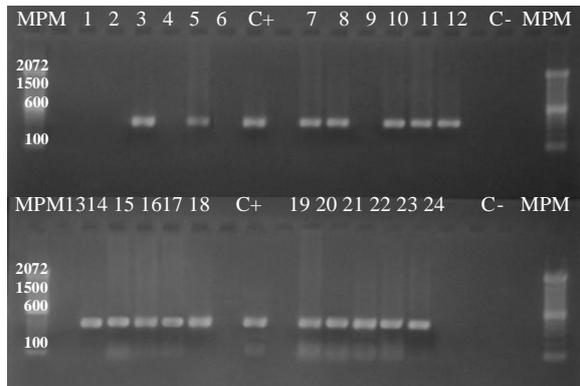
Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de reproductores hembras se encontraba aproximadamente en el orden del 83,3% Foto 1.

Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote LGP-6, demostraron que 17 de los 24 progenitores hembras se encontraban infectados con el virus IHHNV.

Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de reproductores hembras se encontraba aproximadamente en el orden del 70,8% Foto 2.



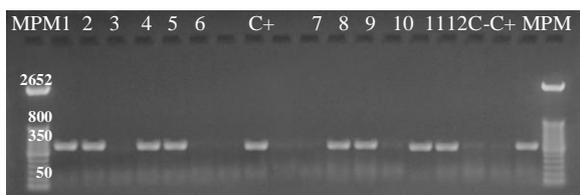
Foto 1. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote B-21, Reproductores, B1. 1-24; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.



Fotos 2. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote LGP-6, Reproductores, B1. 1-24; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.

3.1.2. Bioensayo 2. Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote B21, demostraron que 8 de los 12 progenitores hembras se encontraban infectados con el virus IHHNV.

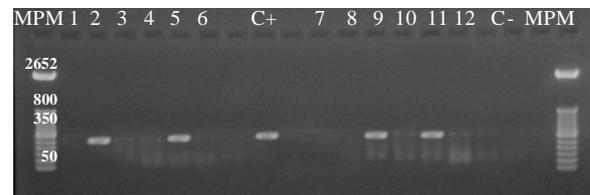
Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de reproductores hembras se encontraba aproximadamente en el orden del 66,7% Foto 3.



Fotos 3. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote B-21, Reproductores, B2. 1-12; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.

Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote LGP-6, demostraron que 4 de los 12 progenitores hembras se encontraban infectados con el virus IHHNV.

Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de reproductores hembras se encontraba aproximadamente en el orden del 33,3% Foto 4.



Fotos 4. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote LGP-6, Reproductores, B2. 1-12; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.

3.2. Prevalencia en Post Larvas 14

La larvicultura se desarrollo en dos laboratorios ubicados en zonas geográficas diferentes: El primero ubicado en Mar Bravo-Salinas (Bioensayo 1) y el segundo ubicado en San Pablo (Bioensayo 2).

La densidad de siembra fue de aproximadamente 320nauplios/litro, tratando de mantener los mismos protocolos de producción para ambos laboratorios; manteniéndolos durante 21 días. A esta edad, es decir, p14, se puede obtener la cantidad suficiente de ADN por individuo.

A fin de obtener información del estado de infección por IHHNV, se seleccionaron 50 post larvas 14 por lote, las cuales fueron analizadas mediante el sistema de PCR simple descrito en materiales y métodos.

3.2.1. Bioensayo 1. Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote B-21, demostraron que 38 de las 50 post larvas se encontraban infectadas con el virus IHHNV (Foto 5). En cambio para el lote LGP-6, mostraron que 33 de las 50 post larvas estaban infectadas por el mismo virus (Foto 6).

Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de post

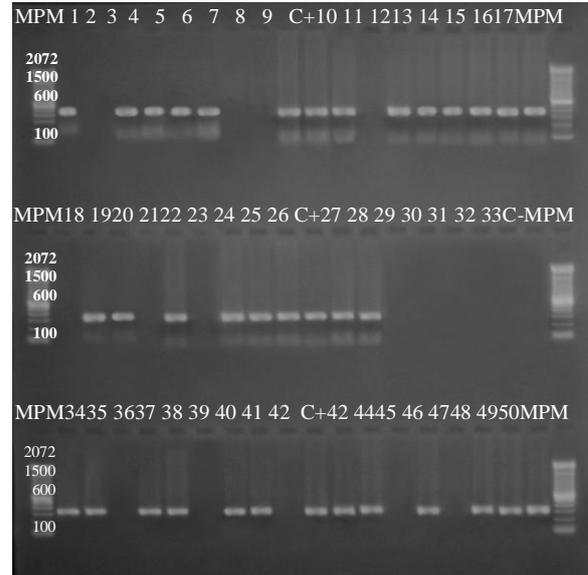
larvas 14 se encontraban aproximadamente en el orden del 76% para el lote B-21 y 66% para el lote LGP-6.

3.2.2. Bioensayo 2. Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote B-21, demostraron que 29 de las 50 post larvas se encontraban infectadas con el virus IHHNV (Foto 7). En cambio para el lote LGP-6, mostraron que 15 de las 50 post larvas estaban infectadas por el mismo virus (Foto 8).

Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de post larvas 14 se encontraban aproximadamente en el orden del 58% para el lote B-21 y 30% para el lote LGP-6.

Los análisis por PCR simple utilizando material biológico del lote B-21, demostraron que 29 de las 50 post larvas se encontraban infectadas con el virus IHHNV (Foto 7). En cambio para el lote LGP-6, mostraron que 15 de las 50 post larvas estaban infectadas por el mismo virus (Foto 8).

Basados en estos datos se puede determinar que la prevalencia del IHHNV en esta población de post larvas 14 se encontraban aproximadamente en el orden del 58% para el lote B-21 y 30% para el lote LGP-6.



Fotos 6. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote LGP-6, Post larva 14, B1. 1-50; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.

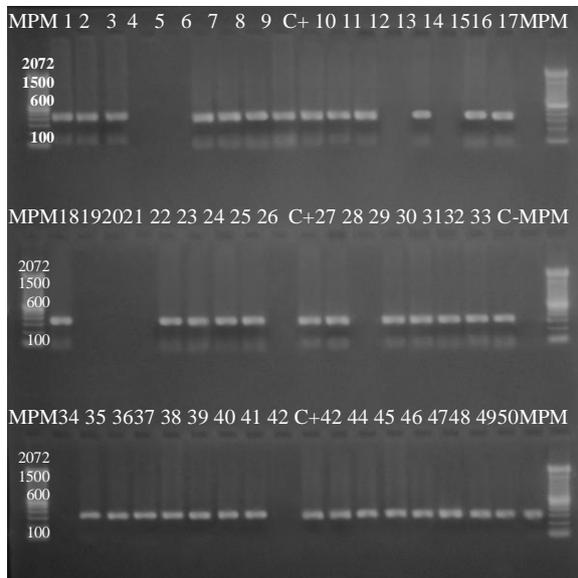
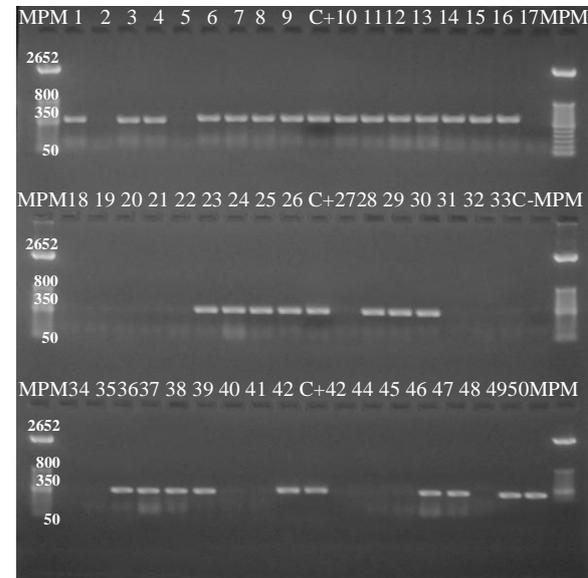
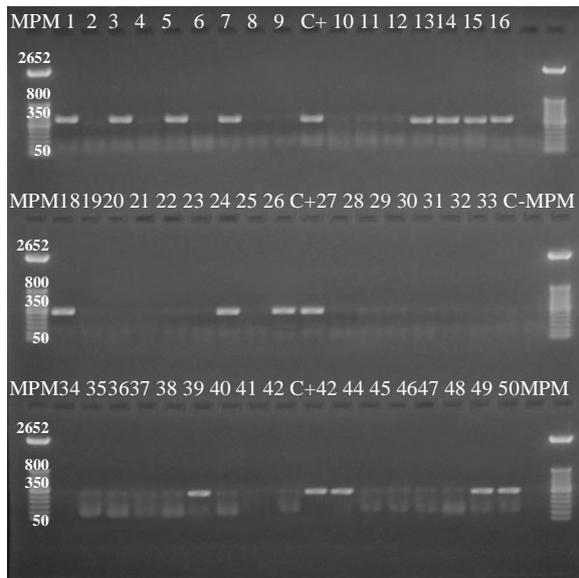


Foto 5. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote B-21, Post larva 14, B1. 1-50; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.



Fotos 7. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote B-21, Post larva 14, B2. 1-50; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.



Fotos 8. Reacciones de amplificación de PCR reveladas en geles de agarosa 1,2% para la detección de IHHNV lote LGP-6, Post larva 14, B2. 1-50; Reacciones de PCR. MPM=Marcador Peso Molecular; C+=Control Positivo banda de 345bp y C-=Control Negativo.

3.3. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos por análisis de PCR simple fueron evaluados en una prueba t de student, para muestras pareadas de variables dependientes, con un nivel de confianza del 95%, en el programa Statistica para Windows, versión 4.3. En el cual, se encontraron diferencias significativas con un $p < .05$. Los datos también fueron evaluados, en el mismo programa, para la correlación de Pearson dando un coeficiente de correlación de: $r = .99592$, a un $p < .05$.

4. Discusión

Ante la demanda sostenida en el ámbito mundial, la camaricultura aporta con un 30% de la producción total de camarón evaluada en 5.2 millones de toneladas [8]. En el Ecuador esta actividad tuvo sus inicios en la década de los '70.

En 40 años de actividad acuícola, el sector se ha visto afectado por pandemias ocasionadas principalmente por agentes virales, esto ha llevado a los productores de este crustáceo:

1. Cerrar el ciclo con la domesticación de la especie;
2. Implementación de programas de mejoramiento genético;
3. Desarrollo de técnicas moleculares, para la detección rápida y oportuna de estos patógenos.

De todas las herramientas moleculares para la detección de agentes etiológicos de infecciones virales, la PCR con su sistema de detección simple, es una de las más utilizadas debido a su especificidad, sensibilidad y costo. No obstante, existen herramientas conjuntas, que han permitido incrementar en especificidad y sensibilidad la detección de IHHNV de animales en estudio [9 y 10].

El objetivo de esta investigación fue determinar, si la prevalencia de IHHNV en progenitoras de un lote estaba íntimamente ligada a la prevalencia de su progenie, en dos sistemas de producción, ubicados en zonas geográficas diferentes.

Para este propósito se determinó la prevalencia en progenitoras y post larvas 14, de dos lotes con diferencia de producción de 60 días en promedio.

El hecho de haber obtenido mayor prevalencia en el primer bioensayo con respecto al segundo, en ambos lotes, podría derivarse de la "forma no contagiosa supuesta de IHHNV", sugerido por Dos Santos *et al.*, 2.009 [11], y la probable activación del virus podría ser atribuida a elevados niveles de stress al momento del desove. Esto indicaría la presencia de IHHNV en camarones asintomáticos, que son utilizados para su reproducción, los mismos que son resistentes o en todo caso tolerantes a la infección del virus, lo cual es sugerido por Boada *et al.*, 2.008 [12].

Hay que tener en cuenta que, Lotz, 1.997[13], indica que la infección de IHHNV puede ocurrir por transmisión horizontal con ingestión del camarón infectado muerto o por el contacto con agua donde se encuentren animales infectados.

No obstante, podríamos decir que los resultados obtenidos probablemente sugieren una transmisión vertical, ligada a la prevalencia de las progenitoras respecto a su progenie al momento del desove, ya que se encontraron diferencias significativas con $p < 0.05$ para una prueba t de variables dependientes pareadas; corroborando los resultados obtenidos por Motte *et al.*, 2.003 [14].

Los datos evidenciados sugieren que existe una probable relación ($r = 0,99895$) entre la prevalencia de la progenitora, respecto a su progenie, a nivel de post larvas 14, el cual es el tamaño promedio para su comercialización.

La presente investigación abre la posibilidad de pensar en una integración del virus en poblaciones de *P. vannamei*, cultivadas en el Ecuador, lo cual ya es sugerido para *P. monodon* [15]; el cual se mantiene latente, hasta que condiciones de estrés y ambientales provocarían su activación, por ende una transmisión vertical a su progenie al momento del desove y que la progenitora es la que mayormente aporta a la misma.

Se recomienda utilizar métodos más sensibles que podrían hacer a los datos obtenidos más confiables, el utilizar sistemas conjuntos de detección como PCR



anidada o Dot Blot/PCR sería aconsejable para incrementar la sensibilidad al momento de análisis de las muestras en estudio.

La generación de familias libres de patógenos, debe de ser una de las estrategias de los productores, para minimizar el impacto de las infecciones virales en sus cultivos e incrementar o mantener los rendimientos de los mismos.

5. Referencias

- [1] Lightner D. V., R. M. Readman, B. T. Poulos, L. M. Numan, J. L. Mari and K. W. Asno. 1996. Risk of spread of penaeid shrimp viruses in the Americas by the international movement of live and frozen shrimp. Review of science and technology of the office of international epizootics. 16 (1): 146-160.
- [2] Nieto J. 2003. El reto de la industria camaronera para el siglo 21. Nuevas técnicas para el manejo sostenible. Investigación & Desarrollo, órgano de difusión del centro de Investigación Científico y Tecnológico de la ESPOL. Revista Informativa. ESPOL. 20-24.
- [3] Argue B., Arce S., Lotz J., Moss S. 2002. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus. Aquaculture. 204: 447-460.
- [4] Perez F. 2003. Desarrollo de marcadores moleculares tipo microsatélite en camarón *Litopenaeus vannamei* para mejoramiento genético. CENAIM INFORMA. No. 92.
- [5] Bierne N., Bezart I., Vonau V., Bonhomme F., Bédier E. 1999. Microsatellite-Associated heterosis in hatchery-propagated stocks of the shrimp *Penaeus stylirostris*. Aquaculture. 184: 203-219.
- [6] Lightner D. V. (1996) A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A.
- [7] Kalagayan H., Godin D., Kanna R., Hagino G., Sweeney J., Wiban J., and Brock J. 1991. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus as an etiological factor in runt-deformity syndrome (RDS) of juvenile *Penaeus vannamei* cultured in Hawaii. J. World Aquacult. Soc. 22, 235-243.
- [8] De la Rosa Vélez Jorge and Bonami Jean Robert, 2006, Detección Molecular de Enfermedades Virales que Afectan el Desarrollo del Cultivo de Camarón. Hidrobiológica 3, 275-293.
- [9] Veloz, N. (2008) Desarrollo de un sistema anidado para la detección del virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en la especie *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Grado, ESPOL.
- [10] Castro, J. (2009) Desarrollo y Analisis del Sistema Conjunto PCR/Dot Blot para la Detección del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa. Tesis de Grado, ESPOL.
- [11] Dos Santos, R.F., Rodrigues, C.P., Garcia, L., Cunha, P.C., Pereira, M., Vasconcelos, R. 2009. Prevalence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in *Penaeus vannamei* cultured in northeastern Brazil Aquaculture 288 (2009) 143–146.
- [12] Boada, M., De Donato, M. y Rodulfo, H. 2008. Detección del virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHNV) en camarones blancos cultivados asintomáticos, *litopenaeus vannamei* (boone), en Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVIII, Nº 1, 7 – 11.
- [13] Lotz, J.M., 1997. Special topic review: viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 13, 405–413.
- [14] Motte E., Yugcha E., Luzardo J., Castro F., Leclercq G., Rodriguez J., Miranda P., Borja O., Serrano J., Terreros M., Montalvo K., Narvaez A., Tenorio N., Cedeño V., Mialhe E., Boulo V., 2003. Prevention of IHHNV vertical transmission in the White shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 219, 57-70.
- [15] Withyachumnarnkul, B., Chayaburakul, K., Lao-Aroon, S., Plodpai, P., Sritunyalucksana, K., Nash, G. (2006) Low impact of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) on growth and reproductive performance of *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 69: 129-136.

Ph.D. Marcelo Segundo Muñoz Naranjo
Director de Tesis
Guayaquil, 02 de junio del 2.010