



RESUMEN TESIS DE POST-GRADO DE MAESTRIA EN ACUICULTURA

“Contribución al estudio de los mecanismos celulares empleados por el camarón *Litopenaeus vannamei* para eliminar el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV)”

ESTUDIANTE: Sara Blake Grey

DIRECTOR: Jenny Rodríguez, Ph.D.

Este trabajo se enfocó en buscar la relación de los signos clínicos externos con el nivel de infección con WSSV (White Spot Syndrome Virus) observado por histología y en estudiar los mecanismos de defensa celular empleados por los camarones sometidos a bajos niveles de infección en condiciones térmicas adecuadas. Para esto, se realizó una infección experimental sub-letal a una temperatura de 28 °C.

Los signos clínicos externos de WSD (White Spot Disease) fueron diagnosticados mediante observaciones individuales considerando la apariencia y la mortalidad. Para el análisis histopatológico se tomaron muestras en animales con diferentes niveles de infección. 1) Aspecto saludable con infección temprana y leve a las 24 h p.i. (post-infection); 2) Agudos, aquellos que no sobrevivieron a la infección; 3) Sobrevivientes (crónicos) a los 7 y 14 días p.i.. En los tejidos se evaluó el grado de lesiones de WSD, necrosis, picnosis - kariorrhexis, así como la respuesta celular del hospedero (hemocitos infiltrantes, esferoides), mediante histología e inmunohistoquímica. Además se analizó la presencia de apoptosis.

En animales muestreados a las 24 h p.i se detectaron las lesiones de WSD en branquias y epitelios, así como el Órgano Linfoide y nódulos hematopoyéticos sugiriendo que el virus manifiesta tropismo temprano por estos tejidos. La inmunohistoquímica mostró la presencia viral en las glándulas tegumentales de los apéndices bucales y en menor medida en otras regiones del cuerpo, sugiriendo que estas glándulas constituyen una puerta de entrada del WSSV en infecciones por baño. Esferoides de Tipo A fueron detectados en el órgano linfoide, los cuales han sido asociados a una infección temprana por TSV (Taura Syndrome Virus). Apoptosis muy marcada se observó en tejidos expuestos al medio como glándula antenal y epitelios. Este

grupo de animales no presentó lesiones de WSD en los tejidos. Todos los camarones que desarrollaron una infección aguda y murieron (8%) presentaron coloración rojiza del cuerpo, manchas blancas en el interior del caparazón pero no visibles a simple vista, el índice más alto de WSD y necrosis focal en la mayoría de sus tejidos comprometiendo sus funciones vitales. La apoptosis se presentó en glándula antenal y epitelios de los camarones con infección aguda, pero también se observó lesiones de WSD en estos tejidos. La pobre presencia de hemocitos infiltrantes podría ser la causa por lo que estos animales no resistieron la infección viral. Además mostraron el mayor porcentaje de esferoides de Tipo C. Los animales crónicos manifestaron manchas blancas que siguieron un patrón simétrico y regular, aspecto lechoso, cola roja y lesiones melanizadas en el exoesqueleto. También mostraron túbulos normales en el órgano linfoide sugiriendo la regeneración celular. Los crónicos de 7 d presentaron lesiones leves por WSD y en ellos ya no se observó apoptosis, pero mostraron altos índices de infiltración de hemocitos. En los crónicos a los 14 d no se observaron lesiones de WSD, ni apoptosis. La coloración rojiza y las manchas blancas estuvieron asociadas con el índice de WSD y necrosis. El aspecto lechoso, segmentado, las lesiones melanizadas y la cola roja no estuvieron asociadas al índice de WSD. La coloración rojiza no estuvo asociada a la infiltración. La inmunohistoquímica permitió detectar a los grandes hemocitos hialinos en los esferoides y en el tejido conectivo del estómago. Los fagocitos hijos del corazón fueron reconocidos como hemocitos pequeños y grandes hialinos. El estroma de los túbulos del órgano linfoide y los podocitos de la glándula antenal, (tejidos con capacidad de filtración), fueron marcados por el anticuerpo que reconoce a los hemocitos pequeños hialinos. La apoptosis puede ser considerada una de las primeras respuestas de los camarones a la infección viral. Apoptosis, infiltración de hemocitos y esferoides fueron los mecanismos celulares que emplearon los camarones infectados con WSSV a una temperatura de 28 °C que sobrevivieron a la enfermedad.

Tabla 1. Índices histológicos y respuesta inmunitaria en los camarones infectados por WSSV de animales muestreados. Índices calculados en base a una combinación del número de individuos infectados en la población y grado de infección de los órganos considerados. Por ejemplo: un índice de 6 en WSD significa que todos los individuos de la población tienen todos los órganos infectados en el más alto grado.

GRUPOS	SIGNOS				
	WSD	Necrosis	P-K	Infiltraci—n	Apoptosis
Agudos	3.2	0.23	0.09	0.01	+
Leves 24h	0.6	0.08	0	0.07	++
Cr—nicos 7 d'as	0.38	0.07	0	0.16	0
Cr—nicos 14 d'as	0.01	0.04	0	0.6	0

Rango de Índices		
WSD	0	- 6
Necrosis	0	- 1
P-K	0	- 1
Infiltraci—n	0	- 1
Apoptosis	+	(leve)
	++	(severo)
	0	(negativo)