Boletín Informativo No.75

28 de Febrero del 2003

# CENAIM INFORMA

*Por Jenny Rodríguez, Ph. D.*
*Investigador Inmunología*

## Inmunoestimulación temprana de camarones *Litopenaeus vannamei* para inducir un mejor desarrollo del sistema inmune y resistencia al WSSV

Este proyecto financiado por IFS (International Foundation for Science) pretende inducir un mejor desarrollo de los tejidos inmunitarios del camarón *L. vannamei* mediante la exposición de las larvas a inmunoestimulación. El efecto buscado es disminuir las mortalidades causadas por el WSSV en la fase de engorde.

El trabajo se está realizando en los laboratorios de la Fundación CENAIM-ESPOL, el período de duración es de 10 meses y tiene tres componentes principales:

- Larvicultura.
- Evaluación de la supervivencia y parámetros inmunitarios de juveniles de 1 y 3 gramos desafiados con WSSV en condiciones de laboratorio.
- Evaluación de la supervivencia, y crecimiento de juveniles cultivados en piscinas.

El componente 1 ya se realizó con la colaboración del personal de larvicultura de la Fundación. El componente 2 lo está realizando el estudiante de Maestría Yuri Espinoza y el componente 3 se está desarrollando en la Estación Experimental Pesglasa.

### Componente 1. Larvicultura

La larvicultura se realizó siguiendo dos protocolos, uno tradicional sin probióticos y el protocolo de CENAIM con probióticos. Los dos protocolos incluyeron el uso de ß-glucanos como inmunoestimulantes. Los tratamientos se detallan en la tabla 1. Se cultivaron 1,425,000 nauplios provenientes de un laboratorio comercial, cuyos progenitores provinieron de un programa de selección genética (Promogen). La larvicultura se desarrolló en tanques de 500 L, a una densidad de 150 nauplios/L, cosechándose las larvas en PL 18 (25 días de cultivo). Se utilizó el probiótico *Vibrio alginolyticus* (cepa Ili), adicionado al agua a una concentración de $10^{10}$ UFC/ml para obtener una concentración final de $10^{5}$ UFC/ml. El protocolo de alimentación contempló agregar el inmunoestimulante en los diferentes estadios de desarrollo larvario según el siguiente esquema:

- Zoea II - PL1 Vía rotíferos (enriquecidos con levapán® como fuente de ß-glucanos)
- PL2 - PL10 Vía *Artemia* (enriquecidos con levapán® como fuente de ß-glucanos)
- PL11-PL18 Vía dieta seca CENAIM 50 conteniendo 150mg de ß-glucano/kg de dieta.

La supervivencia promedio de las larvas fue del 72.95% ± 10.21 con un coeficiente de variación del 14% (Tabla 2, Figura 1). Los mejores resultados se obtuvieron utilizando inmunoestimulantes en estadios tempranos desde Zoea II, independientemente de la aplicación del probiótico (87.47% y 80.60%). Sin embargo, el probiótico tendría un efecto aditivo. La supervivencia con probiótico sin ß-glucanos fue del 72.65%, frente 57.83% sin probiótico y sin ß-glucanos. Además el coeficiente de variación fue menor con probióticos y ß-glucanos (5%) que utilizando solamente ß-glucanos (18%). Estos resultados preliminares sugieren un efecto benéfico sobre la supervivencia de las larvas de la adición tanto de probióticos como del inmunoestimulante durante los estadíos tempranos de desarrollo de *L. vannamei*.

***Tabla 1.-*** *Tratamientos utilizados en el levantamiento larvario de L. vannamei.*

| Tratamientos | | Inmunoestimulante |
|---|---|---|
| T1 | Con Probióticos | Sin ß-glucanos |
| T2 | Con Probióticos | Con ß-glucanos desde Zoea II a Misis II y desde PL2 a PL18 |
| T3 | Con Probióticos | Con ß-glucanos desde PL12 a PL18 |
| T4 | Sin Probióticos | Sin ß-glucanos |
| T5 | Sin Probióticos | Con ß-glucanos desde Zoea II a Misis II y desde PL12 hasta PL18 |
| T6 | Sin Probióticos | Con ß-glucanos desde PL12 a PL18 |

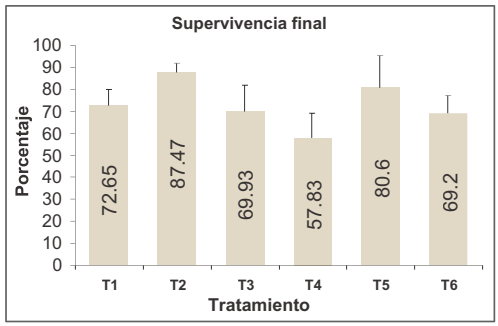


***Figura 1.-*** *Supervivencia final de larvas inmunoestimuladas en fase temprana.*

### Componente 2. Desafíos con WSSV: evaluación de supervivencia y parámetros inmunitarios

Este segundo componente tiene como objetivo confirmar a nivel de laboratorio la hipótesis de investigación que establece que los camarones inmunoestimulados tempranamente tienen un sistema inmune más desarrollado y están mejor preparados para enfrentar desafíos virales. La investigación se realizará en dos etapas:

***1.- Evaluación de la supervivencia.***

Se realizará un desafío con WSSV utilizando camarones en PL75 provenientes de los seis tratamientos antes mencionados. Se evaluará la supervivencia post desafío.

***2.- Evaluación de los parámetros inmunitarios.***

Se realizará un nuevo desafío con WSSV utilizando juveniles de 3 g. Se realizarán tres muestreos: al inicio del experimento (donde se medirá la respuesta inmune de base de los juveniles), a las 24 horas post infección y cuando se haya estabilizado la supervivencia. Las técnicas inmunitarias a realizar serán:

- Hemogramas
- Cuantificación del anión superóxido
- Cuantificación de la actividad fenoloxidasa (PO)
- Cuantificación de la actividad bacteriana del plasma
- Concentración de proteínas plasmáticas

***Tabla 2.-*** *Supervivencia al final de la fase de larvicultura.*

| Tratamiento | Supervivencia (%) + SD |
|---|---|
| T1 | 72,65 ± 7,16 |
| T2 | 87,47 ± 4,45 |
| T3 | 69,93 ± 11,75 |
| T4 | 57,83 ± 11,43 |
| T5 | 80,60 ± 14,83 |
| T6 | 69,20 ± 8,15 |

### Componente 3. Evaluación del crecimiento y supervivencia de los juveniles en condiciones de cultivo en piscinas

Paralelamente a los experimentos a nivel de laboratorio se han sembrado 6 piscinas de 0.25 ha con larvas provenientes de dos tratamientos T1 y T2, a razón de 15 camarones/$m^2$. Ambos tratamientos reciben ß-glucanos según el estadío de muda. Los datos preliminares de muestreo indican que los crecimientos semanales están en el orden de 0,86 g/semana. El experimento concluirá en el mes de abril y se procederá a evaluar producción (lbs/ha), supervivencia final, crecimiento y factor de conversión alimenticia.

***Coeficiente de Variación:*** *expresa en porcentaje la dispersión de los datos con respecto al promedio. Por ejemplo, un tratamiento cuyo peso promedio es de 12 g y presenta un coeficiente de variación de 5% entre sus réplicas, significa pues, que éstas estarán dispersas a razón de un 5% del promedio. Si el 5% de 12 es 0.6, el rango será de 11.4 a 12.6.*