CENAIM INFORMA

Boletín Informativo Quincenal

30 de agosto del 2001

Bioensayos de desafío al virus "Mancha Blanca" en camarones juveniles *Penaeus vannamei* bajo diferentes temperaturas del agua

Desde la aparición del virus "Mancha Blanca" en el Ecuador hace dos años, el sector productor de camarón ha ensayado varias metodologías técnicas y no técnicas para controlar o disminuir las mortalidades del camarón en los estanques, pasando por estrategias de manejo hasta la aplicación de menjurjes de diversa índole. De todas las experiencias, el único efecto que probablemente tenga incluso una significancia estadística sobre la supervivencia de los camarones es el de la estación climatológica durante la cual se realiza el cultivo. Tanto en Ecuador como en los países de Centro América se han reportado mejores supervivencias durante la temporada cálida con "Mancha Blanca". Históricamente sin embargo, las producciones han sido superiores en esta época. Por un lado, el incremento de la luminosidad estimula la productividad natural del estanque mejorando las condiciones nuticionales del camarón, y por otro lado el incremento de temperatura aceleraría el metabolismo del camarón traduciéndose esto en crecimientos más rápidos. Se estima que la temperatura óptima para el desarrollo de camarón *Penaeus vannamei* es de 28° a 30°C. La temperatura del agua en el estanque de cultivo puede alcanzar valores entre 28° a 31°C durante el invierno de diciembre a abril. Basados en este antecedente de mejor supervivencia durante la época cálida, el CENAIM realizó tres bioensayos exploratorios para determinar el efecto de la temperatura sobre camarones infectados o desafiados al virus "Mancha Blanca". Los resultados de este trabajo son presentados en el presente artículo.

Metodología

Se realizaron tres bioensayos, denominados de aquí en adelante como bioensayo I, II y III. El bioensayo I consistió en infectar experimentalmente mediante el suministro de una papilla contaminada con virus "Mancha Blanca" camarones juveniles *Penaues vannamei* mantenidos a tres temperaturas de agua; 27°, 30°y 33°C. Como control de las condiciones experimentales se mantuvieron paralelamente camarones no infectados a las mismas temperaturas al mismo tiempo. En total se contó con 6 tratamientos (3 control). Se asignó 10 camarones por tratamiento. El peso de los camarones de experimentación varió entre 1.5 a 2.5 g.

La experimentación del bioensayo II fue similar a la del bioensayo I. Sin embargo, en este segundo experimento se evaluó además el estado inmunológico de los camarones infectados y no infectados sometidos a las tres temperaturas. Para este efecto se llevó paralelamente seis acuarios de 20l con 50 camarones cada uno y las mismas condiciones de experimentación. De estos acuarios se seleccionaron diariamente al azar cinco camarones para extracción de hemolinfa para los siguientes análisis: hemograma y determinación de anión superóxido (O_2^-). Este monitoreo fue realizado por cinco días a partir de la infección.

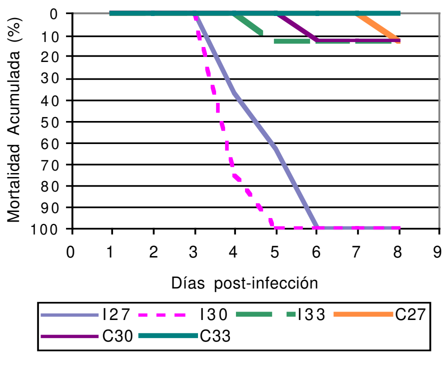
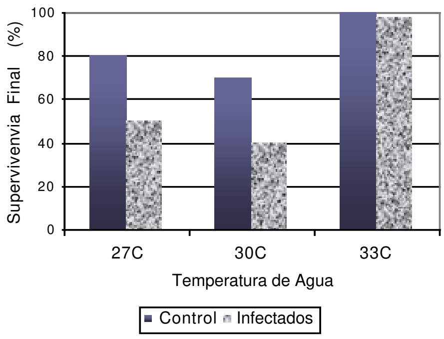


Figura 1. Bioensayo I - Mortalidad acumulada de camarones juveniles P. vannamei sometidos a infección con virus "Mancha Blanca" y tres temperaturas de agua. I27-I33 = Camarones infectados mediante ingestión de papilla de tejido con virus "Mancha Blanca" a 27°, 30° y 33°C; C27 – C33 = camarones no infectados a 27°, 30° y 33°C.

El bioensayo III consistió de los siguientes cuatro (4) tratamientos: a) camarones infectados a 33°C, mantenidos a esta temperatura por 36 horas, y luego sometidos a 27°C por 8 días, b) camarones infectados a 33°C y mantenidos a esta temperatura por 8 días, c) camarones infectados a 27°C, mantenidos a esta temperatura por 36 horas, y luego sometidos a un incremento de 33°C por 8 días, y d) camarones infectados a 27°C y mantenidos a esta misma temperatura por 8 días. Las unidades experimentales estuvieron constituídas por tanques de 200 l de capacidad, cada uno conteniendo 100 camarones con peso de 0.4 a 1.0 g. Se asignó 3 tanques por tratamiento.

Figura 2. Bioensayo II - Supervivencia final de camarones juveniles P. vannamei sometidos a infección con virus WSSV y tres temperaturas de agua. Infectados = camarones infectados mediante ingestión de papilla de tejido con virus "Mancha Blanca" a 27°, 30° y 33°C; Control = camarones no infectados a 27°, 30° y 33°C.



Resultados

Los resultados de supervivencia de camarones infectados y no infectados con virus "Mancha Blanca" del bioensayo I y II se presentan en forma esquemática en las figuras 1 y 2, respectivamente. Las mortalidades de los tratamientos de camarones infectados a 27° y 30°C fue del 100% y 50 a 60% para los ensayos I y II, respectivamente. Sin embargo, los camarones infectados a 33°C registraron supervivencias entre 90 a 100% en ambos experimentos. El seguimiento inmunológico de camarones sometidos a las distintas temperaturas durante los primeros cuatro días post-infección reveló que en todos los grupos infectados se produjo una reducción considerable de hemocitos totales a las 48 horas post-infección, pero esta disminución fue menor en el grupo de 33°C, el cual no bajo de 10 millones de hemocitos totales por ml (Figura 3). Luego de las 48 horas se observó una recuperación del número total de hemocitos en el tratamiento de 33°C, lo cual no ocurrió en los otros dos tratamientos.

Las poblaciones hemocitarias generadas en los camarones sometidos a 33°C fueron células semi-granulosas y hialinas (Figuras 4 y 5). En este grupo se pudo apreciar además un mayor número de hemocitos anómalos al inicio de la infección, los cuales descendieron paulatinamente junto con los hemocitos granulosos (Figura 6). El índice inmunológico (un índice construído a partir del número total de hemocitos, concentración de proteínas plasmáticas y producción de O_2^-) fué también comparativamente superior en este tratamiento (Figura 7).

En el bioensayo III se repite la alta supervivencia de camarones infectados a 33°C y mantenidos a esta temperatura (Figura 8). El tratamiento con camarones infectados a 27°C y llevados luego de 36 horas a 33°C presenta una leve mortalidad a las 48 horas. Sin embargo, esta mortalidad se suspende inmediatamente después de este evento inicial hasta el final del bioensayo. Los camarones infectados a 33°C y luego de 36 horas llevados a 27°C comienzan a registrar una mortalidad a partir del quinto día. La mortalidad acumulada de este tratamiento al octavo día fue de 20%, muy por debajo de los camarones infectados a 27°C y mantenidos a esta temperatura, la cual hasta el final del ensayo fue de 92%.

Trabajo realizado por Jenny Rodríguez , Ph.D. y Stanislaus Sonnenholzher, Ph.D.

CENAIM INFORMA

Boletín Informativo Quincenal

30 de agosto del 2001

Bioensayos de desafío al virus "Mancha Blanca" en camarones juveniles *Penaeus vannamei* bajo diferentes temperaturas del agua

(continuación)

Conclusiones preliminares

La temperatura de 33°C tiene un efecto positivo en la supervivencia de camarones infectados con virus "Mancha Blanca" por vía oral. Sin embargo desconocemos aún la(s) causas que generan este efecto, aunque observamos una mejor respuesta inmunitaria celular en los camarones a través de la producción de hemocitos hialinos, semi-granulosos y anómalos. Datos no publicados indican que las células anómalas serían hemocitos activados o fagocitadores. Los camarones a 27° y 30°C no reemplazaron los hemocitos consumidos, en ellos no se puede descartar una posible infección del órgano hematopoyético como causa. Se ha planteado además la hipótesis de la producción de proteínas "chaperonas" conocidas como "heat shock proteins (hsps)" debido al estrés de la temperatura. Una de las funciones de las hsps es la de ayudar a la síntesis de proteínas bajo condiciones de estrés. En vertebrados se ha reportado una inducción de la respuesta inmune innata por efecto de hsps. Uno de los resultados probablemente más significativos de uno de los bioensayos fue el de la suspensión de la mortalidad por elevación de temperatura en un grupo de camarones que comenzaron a mostrar mortalidades luego de ser infectados con elevada carga viral.

Se podria llegar a pensar en tener sistemas de tratamiento térmico (raceway, sistemas de inmersión), pero hay varias dudas que resolver antes de saber su efectividad aplicada. Entre estas preguntas están: efecto residual o duración de tratamiento de temperatura a mediano y largo plazo; punto de quiebre de temperatura que causa el efecto; mecanismo(s) inmunológicos, moleculares o metabólicos en el crustáceo que intervienen en la respuesta e implantación práctica de estos resultados en el campo.

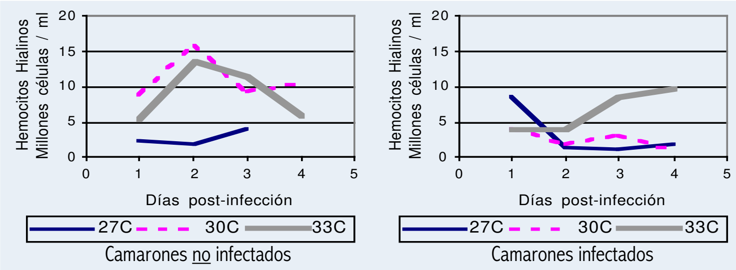


Figura 5. Hemocitos hialinos en hemolinfa de camarones juveniles de P. vannamei infectados por vía oral con virus "Mancha Blanca" y sometidos a diferentes temperaturas de agua.

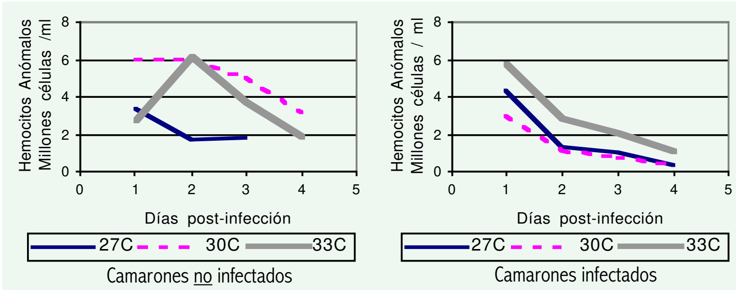


Figura 6. Hemocitos anómalos en hemolinfa de camarones juveniles de P. vannamei infectados por vía oral con virus "Mancha Blanca" y sometidos a diferentes temperaturas de agua.

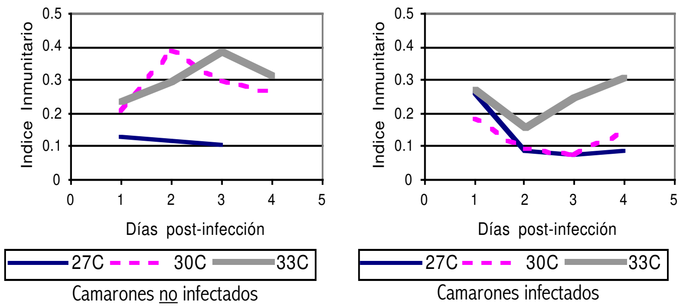


Figura 7. Indice inmunitario de camarones juveniles de P. vannamei infectados por vía oral con virus "Mancha Blanca" y sometidos a diferentes temperaturas de agua.

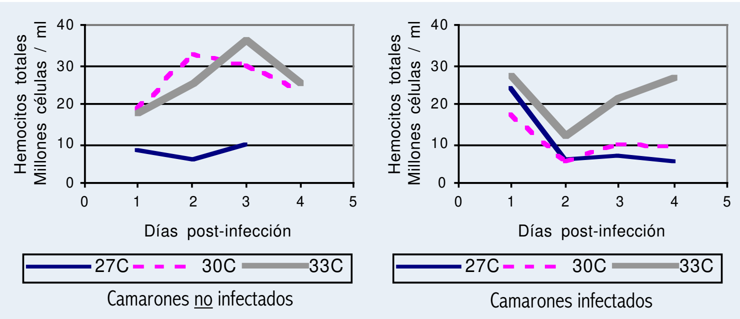


Figura 3. Hemocitos totales en hemolinfa de camarones juveniles de P. vannamei infectados por vía oral con virus "Mancha Blanca" y sometidos diferentes temperaturas de agua.

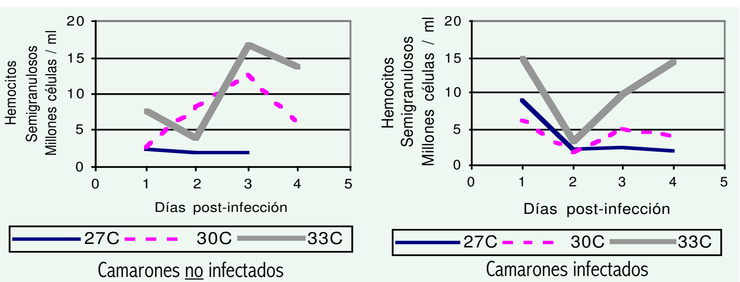


Figura 4. Hemocitos semi-granulosos en hemolinfa de camarones juveniles de P. vannamei infectados por vía oral con virus "Mancha Blanca" y sometidos a diferentes temperaturas de agua.

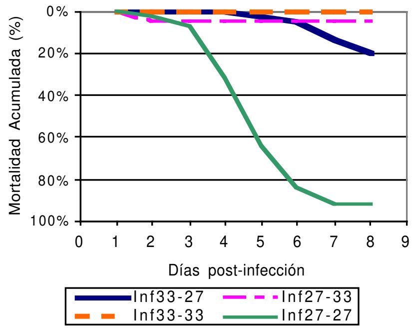


Figura 8. Bioensayo III - Mortalidad acumulada de camarones juveniles P. vannamei sometidos a infección con virus "Mancha Blanca" y dos temperaturas de agua de infección. Tratamientos: Inf33-27 = camarones infectados a 33°C, mantenidos a esta temperatura por 36 horas, y luego sometidos a 27°C por 8 días; Inf33-33 = camarones infectados a 33°C y mantenidos a esta temperatura por 8 días; Inf27-33 = camarones infectados a 27°C, mantenidos a esta temperatura por 36 horas, y luego sometidos a un incremento de 33°C por 8 días; y Inf27-27 = camarones infectados a 27°C y mantenidos a esta misma temperatura por 8 días.

Trabajo realizado por Jenny Rodríguez , Ph.D. y Stanislaus Sonnenholzher, Ph.D.

Fundación CENAIM - ESPOL * Teléfonos: 593-4-269494 / 750 / 751 * Fax: 593-4-269492
cenaim@espol.edu.ec * www.cenaim.espol.edu.ec