

## INTRODUCCION

Entre los cultivos de organismos acuáticos, el camarón se encuentra como uno de los de mayor potencial de desarrollo, dado su crecimiento promedio anual mundial de 6.5 %, alto valor en el mercado, viabilidad, tecnología actual para cultivo y la factibilidad de obtención de recursos favorables para su crecimiento en las áreas tropicales del mundo.

El abasto, precio y calidad de la pesquería marina fluctúa considerablemente debido a que el océano es un recurso no manejable cuyas producciones son difíciles de predecir. Pero cuando las especies son cultivadas, el abasto y comercialización pueden ser controlados muy eficientemente. La alta calidad de tales productos pueden mantenerse inalteradas debido a que las condiciones de producción y cosecha son controladas y a que los organismos cultivados, generalmente llegan a las plantas procesadoras antes de 24 hrs de su cosecha (Lovell, 1991).

En los últimos seis años los camaricultores han producido aproximadamente el 25% del camarón comercializado en el mundo. En 1994 la producción mundial de camarón cultivado se estimó en 730,000 toneladas métricas, de las cuales, el 1.5 % (12,000 toneladas métricas), se produjeron en México (World Shrimp Farming, 1994).

Un factor limitante en la producción del camarón son las enfermedades, especialmente, aquellas que son producidas por protozoarios, entre las que destaca la comunmente llamada "camarón de leche" o "camarón de algodón", causada por microsporidios de los géneros *Nosema Pleistophora* y *Thelohania*. Estos parásitos que forman esporas principalmente en tejido muscular y gónadas son hospedados por invertebrados como insectos y crustáceos, vertebrados como peces y ocasionalmente mamíferos (Cali y Owen, 1988).

En México, los mas importantes factores que limitan la actividad camarónica son los nutricionales y los de índole patológica, causados por virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoarios parásitos, debido generalmente a la mala calidad de agua usada en su cultivo. Sobre este respecto, muy poco se conoce acerca de la distribución de enfermedades parasitarias y la mortalidad de camarones penaeidos (Couch, 1978; Lightner, 1993; Lightner, 1985; Lightner y cols., 1984) y solo existen datos vagos, colectados en programas de sanidad acuícola de granjas, esteros o centros de acopio. Los reportes relacionados al diagnóstico de enfermedades en nuestro país, también son bastante escasos, aunque recientemente ha empezado a surgir información sobre microsporidios causantes de daño en tejido reproductor de "camarón rosado" *Penaeus duorarum* cultivado en la Laguna Madre, Tamaulipas (Segovia y cols., 1991).

## **HIPOTESIS DE TRABAJO**

Utilizando microscopía electrónica, podrá describirse la ultraestructura de microsporidios y los cambios histológicos que sufre el "camarón blanco" (*Penaeus vannamei*) procedente de granjas camaronícolas del Sur de Sinaloa, cuando es parasitado por dicho patógeno.

## **OBJETIVO**

- 1.- Describir el desarrollo morfológico de microsporidios en tejidos de "camarón blanco" (*Penaeus vannamei*) y caracterizar la patología asociada a esta enfermedad.

## **IMPORTANCIA**

La importancia de este estudio radica en la existencia de microsporidios causantes de anomalías conocidas comúnmente como "camarón de leche" o "camarón de algodón", las cuales afectan principalmente al sistema muscular de los camarones penaeidos pertenecientes al género y especie *Penaeus vannamei*, ya sea cultivados o silvestres. Además estos parásitos son responsables de mortalidades o irregularidades patológicas que pueden afectar la producción y calidad del producto.

## ANTECEDENTES

Los principales estudios relacionados a microsporidios en camarones penaeidos y otros hospederos acuáticos se han realizado principalmente en el extranjero y solo unos cuantos datos han surgido de México.

Sprague y Vernick (1968), asocian la presencia de *Glugea weissenbergi* con tumoraciones en células hipertrofiadas ó xenomas de crustáceos. Observan los cambios morfológicos de la espora en el cual el primordio del filamento polar se encuentra a la mitad del itsmo nuclear presente durante la división del esporonte. Relacionan el alto grado de integración fisiológico y estructural con las células hospederas y con el desarrollo transformativo de la célula la cual sugiere una analogía con ciertos virus.

Sprague y Vernick (1969), realizan trabajos utilizando microscopía de luz y electrónica en esporas de *Nosema* encontradas en el músculo del camarón blanco *Penaeus setiferus* de las costas de Georgia, en Norteamérica. Reportan que esta especie de parásitos es similar a *Nosema nelsoni* del "camarón café" *Penaeus aztecus*.

Sprague and Couch (1971), describen una extensa lista de parásitos protozoarios, hiperparásitos y comensales presentes en decápodos. Su investigación es principalmente taxonómica, resaltando los problemas de clasificación y nomenclatura encontrados a nivel genérico y de especie. Mencionan los sitios de infección, hospederos, localidades y patogenicidad para cada uno de los patógenos descritos.

Overstreet (1973), menciona parásitos de "camarón blanco" *Penaeus setiferus*, "camarón café" *Penaeus aztecus* y "camarón rosado" *Penaeus duorarum* capturados en su hábitat silvestre en el Golfo de México. Registra protozoarios comensales; parásitos; helmintos pertenecientes a los grupos Turbellaria, Digenea, Monogenea, Cestoda, Nemertea, Acantocephala, Nematoda, Nematomorpha; y artrópodos de los grupos Copépoda, Cirripedia, e Isópoda . Para cada uno de estos, incluye datos de incidencia e intensidad de la infección.

Sprague y Vernick (1974), estudia la estructura fina del quiste y algunos estudios de esporulación de *Ichthyosporidium* sp. aparentemente idéntico al tipo de especie *Ichthyosporidium giganteum* observaron estadios tardíos de quistes maduros conteniendo estadios de esporulación y en estado terminal. Este tipo de quiste peculiar puede ser un carácter distintivo para definir a *Ichthyosporidium* sp.

Sprague, Vernick y Kruse (1977), reconocen para los microsporidios un Complejo de Golgi clásico que consiste en zonas vesiculares, vacuolas y cisternales así como una esporogénesis completa de *Thelohania* sp.

Johnson (1978), reporta a los principales parásitos que atacan al camarón. La investigación la enfoca como una guía para personas que cultivan camarón o personas interesadas en el conocimiento de los parásitos o anomalías de origen nutricional o calidad del agua. Aporta descripciones e ilustraciones, ciclos vitales y características biológicas generales de éstas enfermedades. Además describe varios síndromes de origen desconocido como tumores o necrosis cuticular.

Johnston, Vernick y Sprague (1978), registran a *Thelohania butleri* en células de músculo del camarón *Pandalus jordani*, colectado en British Columbia, Canadá. Observaron los estudios de esporulación encontrándose que esta es uninucleada con células pequeñas diplocariónicas resultando de la fase de los esporontes. También reportan la esporogénesis con tres divisiones binarias.

Overstreet (1978), da un listado de las principales enfermedades de organismos acuáticos. Reporta en otras enfermedades a las ocasionadas por *Agmasoma penaei* como la especie más específica de tejidos; así mismo diferencia en base a morfometrías a los géneros *Ameson* (= *Nosema*) *Pleistophora* y *Thelohania duorarum*, así como una comparación morfotaxonomía con las investigaciones realizadas al respecto a nivel mundial.

Kelly (1979), realiza un estudio histopatológico en el "camarón rosado" (*Penaeus duorarum*) y encuentra microsporidios de *Thelohania duorarum*, *Agmasoma penaei* y *Pleistophora* sp. La primera especie la localizaron en la periferia de los músculos estriados y hemocele. La segunda especie en músculo abdominal y ovario. Al género *Pleistophora* se le describe cómo parásito de todos los tipos de músculo.

Vivares y Sprague (1979), reportan a *Nosema pulvis* en el músculo del cangrejo *Carcinus maenas*. Ellos no pueden distinguir muchos detalles de la morfología y ciclo de vida de varias especies. Creen que las esporas se originan del producto final de una serie de divisiones binarias como *Nosema bombycis*.

Lightner (1983), reporta las principales enfermedades infecciosas causadas que atacan a camarones del género *Penaeus*, principalmente virus, bacterias, hongos y parasitarias, entre las cuales menciona a el "camarón de leche" causada por los géneros *Ameson* (= *Nosema*), *Agmasoma* (= *Thelohania*) y *Pleistophora*. Reporta que el tejido infectado por esos parásitos incluye músculo estriado, músculo lisado y gónadas.

Sindermann y Lightner (1988), llevan a cabo el diagnóstico de la enfermedad "camarón de leche" o "camarón de algodón", ubican en el hemisferio Oeste a tres principales especies de microsporidios en camarones penaeidos. Estos géneros son *Agmasoma* (= *Thelohania*), *Ameson* (= *Nosema*) y *Pleistophora*. Las especies más conocidas son *Agmasoma penaei*, *Agmasoma duorara*, *Ameson nelsoni* y *Pleistophora penaei* en camarones penaeidos cultivados o silvestres del Pacífico Mexicano y Golfo de México.

Segovia y cols. (1991), describen al microsporidio *Agmasoma* (= *Thelohania*) *penaei* en tejido muscular y reproductor de camarón rosado *Penaeus duorarum* colectado en su hábitat natural en la Laguna Madre, San Fernando, Tamaulipas, México, y consideran algunos aspectos de la morfología de la espora madura y etapas vegetativas apoyándose con microscopio de luz y electrónico de transmisión. Este estudio provee la primera descripción ultraestructural de *Agmasoma* (= *Thelohania*) *penaei* en *Penaeus duorarum* confirmando su posición dentro del género *Agmasoma* y agregándose como nuevo registro para México.

Lightner (1994), menciona que las enfermedades más comunes en camarones *Penaeus* cultivados en Ecuador, Honduras, México y Perú son los virus IHNV, BP, bacterias *Vibrio* spp, hongos *Fusarium solani*, protozoarios epibiontes de los géneros *Acineta* spp, *Cothurnia* spp, *Zoothamnium* spp y *Epystillis* spp, haplosporidios y microsporidios.

Lightner (1996), Describe las principales patologías ocasionadas a camarones penaeidos de importancia económica en el mundo. Los géneros de protozoarios causantes de daño al hospedero son *Nosema*, *Thelohania* y *Pleistophora*.

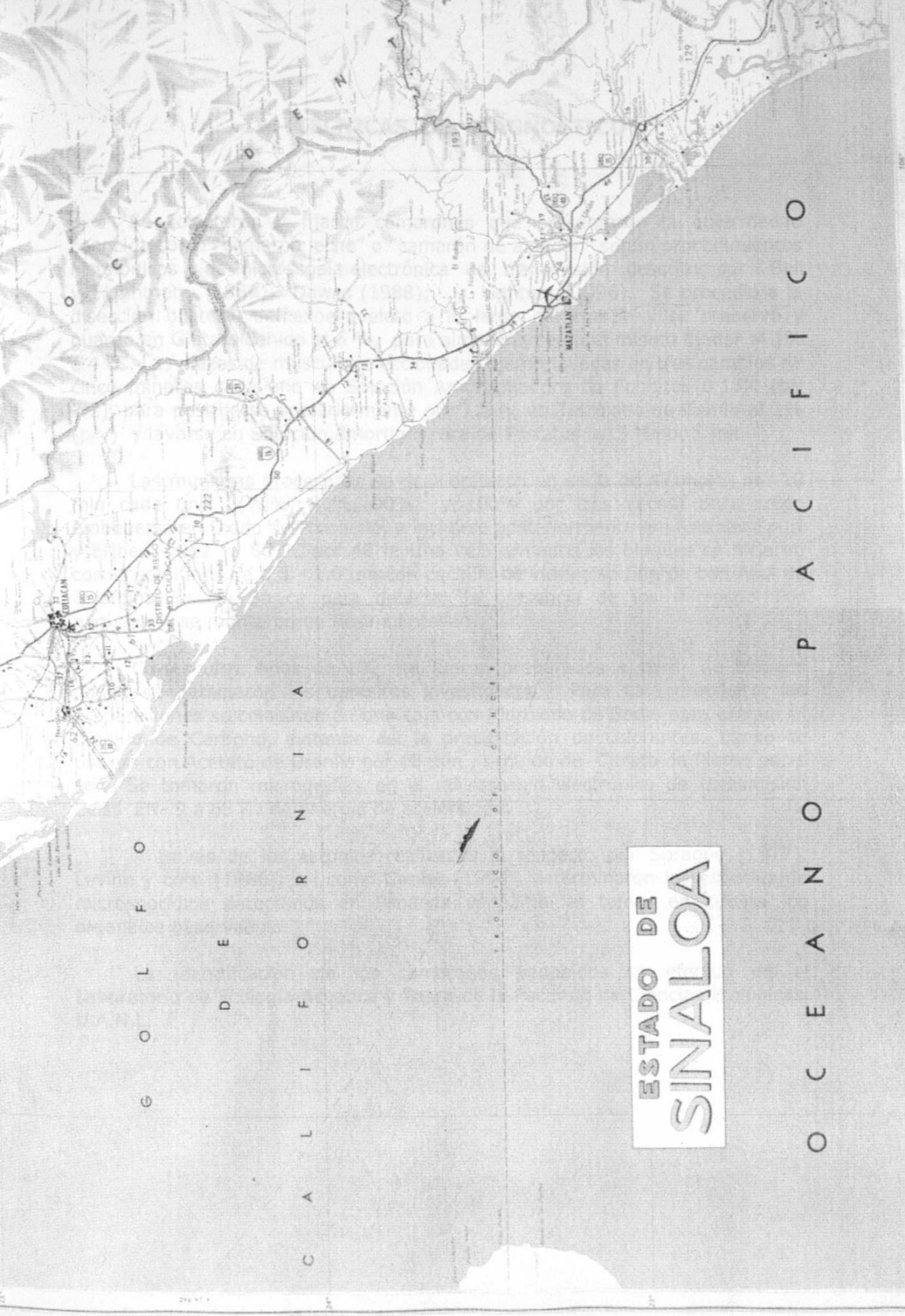
## **I.- ZONA DE COLECTA**

El material protozoológico de camarones silvestres y cultivados se recolectó en granjas localizadas en Mazatlán, Escuinapa, Navolato, y Cruz de Naranjero, Sinaloa. El material colectado fue trasladado al Centro Nacional de Sanidad Acuícola, ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL para su posterior estudio histopatológico y ultraestructural.

Los camarones penaeidos (*Penaeus vannamei*) "camarón blanco" del Pacífico, fueron cosechados en la Granja La Clementina, localizada cerca del Poblado de Barrón y el Ejido de la Isla de Piedra dentro del Municipio de Mazatlán, Sinaloa al Noreste del país. Las coordenadas son 23° 10' de latitud Norte y 106° 26' de longitud Oeste. La zona se caracteriza por tener clima subtropical - tropical húmedo, las temperaturas medias fluctúan entre 22 - 30°C. Los vientos predominantes son los del Noreste en invierno y del Suroeste en verano. La precipitación pluvial media anual alcanza aproximadamente en valor promedio de 213 mm. También hay un período de lluvias en Agosto, Septiembre y Enero, acompañado de tormentas tropicales o chubascos ( Servicio Meteorológico de la SARH, 1991-1992) .

El Municipio de Escuinapa está localizado geográficamente al Sur del Estado de Sinaloa entre los 105° 17' 17" y los 105° 49' 18" al Oeste del meridiano de Greenwich y entre los paralelos 22° 99' 18" y los 23° 00' 00" de latitud Norte, determina junto con el Municipio del Rosario, al Sur con el Estado de Nayarit, al Oriente con Nayarit y el Municipio del Rosario, al Poniente con el océano Pacífico. El clima es tropical de sabana, la temperatura media anual es de 26° C y la mínima es de 7.5 °C, con una precipitación pluvial media de 1019 mm, y 1284.4 - 978.2 mm como máxima y mínima respectivamente. Los vientos dominantes son en dirección Oeste y llevan una velocidad promedio de 1 m/s.

El Municipio de Navolato se localiza en la parte central del Estado de Sinaloa entre las coordenadas extremas de 107° 14' 00" y 108° 04' 50" de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich a una latitud Norte de 24° 25' 45" y 24° 59' 30" colinda al Norte con los Municipios de Morcorito y Angostura, al Sur, Oeste, Noreste, Sureste, y Suroeste con el Golfo de California y al Este y Noreste con Culiacán. Su altitud sobre el nivel del mar varía de 0 a 20 m en sus partes más altas. El clima es seco, cálido, con lluvias en verano y escasas a lo largo del año. La temperatura media anual varía de 20° a 26° C según la altitud . La precipitación media anual oscila de los 400 a los 600 mm (Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Sinaloa, 1988).



G O L F O

D E

C A L I F O R N I A

100 KILOMETROS

ESTADO DE  
**SINALOA**

O C E A N O  
P A C I F I C O

## II.- TECNICAS DE DIAGNOSTICO

Se colectaron y fijaron camarones que presentaron la enfermedad conocida como "camarón leche" o "camarón de algodón" según procedimientos histológicos y de microscopía electrónica de transmisión descritos por Bell y Lightner (1988); Dawes (1988); y Lightner (1996). Se procedió a la disección bilateral del exoesqueleto a lo largo del cuerpo y se preservó y guardó en Glutaraldehído al 6 %, para almacenarse en el mismo fijador al 1% a 4 °C. Las piezas de músculo seleccionadas fueron lavadas en tres cambios de cinco minutos cada uno en Solución Amortiguadora de Fosfatos 0.15M (pH 7.2), para postfijarse posteriormente por 1.5 h en Tetróxido de Osmio al 1% (p/v) y lavarse en Solución Amortiguadora de Fosfatos 0.15 M por 5 min.

Las muestras procesadas se deshidrataron en serie de Alcoholes por 10 min cada uno (70%, 80%, 90% y 100% por tres veces) para luego embeberse en Oxido de Propileno, e incluirse posteriormente en Resinas Spurr y ENbed - 812 a 60 °C por 48 h. Una vez formados los bloques se hicieron cortes semifinos de 0.5 - 1.0  $\mu\text{m}$  con cuchilla de vidrio; se tiñeron con Azul de Toluidina-Fuscina Básica para detectar la presencia de los microsporidios parásitos y se montaron en Resina Entellan.

Cortes ultra finos de 100 nm fueron preparados a partir de bloques donde se detectaron los parásitos investigados. Para este propósito, las preparaciones se colocaron en una caja con Hidróxido de Sodio para extraer el Dióxido de Carbono, evitando así la precipitación de colorantes. Luego se tiñeron con Acetato de Uranilo por 10 min , seguido de Citrato de Plomo por 1 min. Se tomaron micrografías en el microscopio electrónico de transmisión Zeiss EN- 9 a 65 Kv de energía de aceleración.

A través de los estudios realizados al respecto por Sprague (1977), Levine y cols. (1980), así como Corliss (1994), determinaron las especies de microsporidios detectados en *Penaeus vannamei* al tomar en cuenta los organelos observados.

La identificación de los camarones penaeidos se efectuó en el Laboratorio de Ecología Acuática y Pesca de la Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

|       |                                |
|-------|--------------------------------|
| (dp)  | disco polar                    |
| (c)   | cisternas                      |
| (cg)  | complejo de Golgi              |
| (cic) | condensación interna central   |
| (e)   | esporas                        |
| (ebl) | esporoblasto laminar           |
| (eb)  | esporoblasto                   |
| (el)  | estructuras laminares          |
| (eg)  | esporoplasma granular          |
| (ei)  | esporas inmaduras              |
| (em)  | esporas maduras                |
| (en)  | endospora                      |
| (es)  | esporontes                     |
| (ex)  | exospora                       |
| (fp)  | filamento polar                |
| (gs)  | gránulos de secreción          |
| (m)   | merontes                       |
| (mc)  | microsporidios                 |
| (ma)  | merontes alargados             |
| (me)  | membrana                       |
| (med) | merontes en división           |
| (mm)  | membrana merogónica            |
| (mg ) | merontes en gemación           |
| (ml)  | músculo lisado                 |
| (mo)  | merontes ovaes                 |
| (ms)  | músculo sano                   |
| (n)   | núcleo                         |
| (p)   | punte de división              |
| (pfp) | primordios del filamento polar |
| (pl)  | polaroplasto laminar           |
| (pt)  | pared trilaminar               |
| (se)  | sacos expandidos               |
| (v)   | vacuolas                       |
| (ze)  | zona externa                   |
| (zi)  | zona interna                   |
| (zs)  | zonas de sarcolemas            |

## RESULTADOS

Se identificaron varias especies de *Microspora* parásitos de "camarón blanco" *Penaeus vannamei* procedente de las granjas ubicadas en Mazatlán, Escuinapa, Navolato y Cruz de Naranjero, Sinaloa.

### MICROSPORIDIOS DE CAMARONES DE MAZATLAN

En cortes semifinos de tejido muscular se observa organización de las miofibrillas y algunas zonas de sarcolemas entre los paquetes musculares. (Foto No. 1). En algunas áreas parasitadas y áreas tisulares separadas hay desorganización de miofibrillas y paquetes musculares con áreas invadidas por los microsporidios, así como músculo lisado y fases iniciales del parásito. (Foto No. 2). Zonas dañadas por esporas que alcanzaron un estado de madurez avanzado, se apreciaron de forma ovalada con una pared trilaminar, donde además se observa músculo totalmente lisado así como también músculo sano. (Foto No. 3). Se distinguen dos merontes en división con un puente característico, membrana merogónica y primordios del polaroplasto (Foto No. 4). Se observaron esporoblastos delimitados por una membrana y estructuras visiblemente laminares formando parte de un complejo de Golgi (Foto No. 5). Se apreció músculo sano invadido con microsporidios en diferentes fases de desarrollo, las fases iniciales de infección fueron merontes en principio de gemación (Foto No. 6). El tejido muscular estuvo infectado con algunos merontes que se observaron en principio de gemación particularmente en músculo lisado (Foto No. 7). Se notaron estructuras granulares, vacuolas y primordios del filamento polar de forma tubular y redondeada pero sin ningún acomodo (Foto No. 8). Se observaron merontes y esporas inmaduras en un estado más avanzado de desarrollo, donde además se apreciaron primordios de filamento polar como estructuras redondeadas bien definidas (Foto No. 9). Corte transversal del filamento polar, donde se observa que está formado por una capa externa, medio y condensación central (Foto No. 10). En zonas dañadas de músculo se observaron esporas inmaduras en el cuál se notó el núcleo además del filamento polar y vacuolas (Foto No. 11). Esporas maduras donde se notaron exospora y endospora (Foto No. 12).

## FOTOGRAFIAS MAZATLAN

Foto No. 1.- Corte fino de músculo de *Penaeus vannamei* donde se observan zonas de sarcolemas (zs) entre los paquetes musculares y músculo sano (ms). 19,220 X.

Foto No. 2.- Areas invadidas por microsporidios (flechas), músculo sano (ms), músculo lisado (ml). 4,673 X.

Foto No. 3.- Tejido muscular infectado donde se observan merontes en gemación (mg), así como también músculo sano (ms) y músculo lisado (ml). 21,156 X.

Foto No. 4.- Proliferación de fases iniciales en la merogonia a los largo del músculo sano (ms), músculo lisado (ml) y merontes en principio de gemación (mg). 4,495 X.

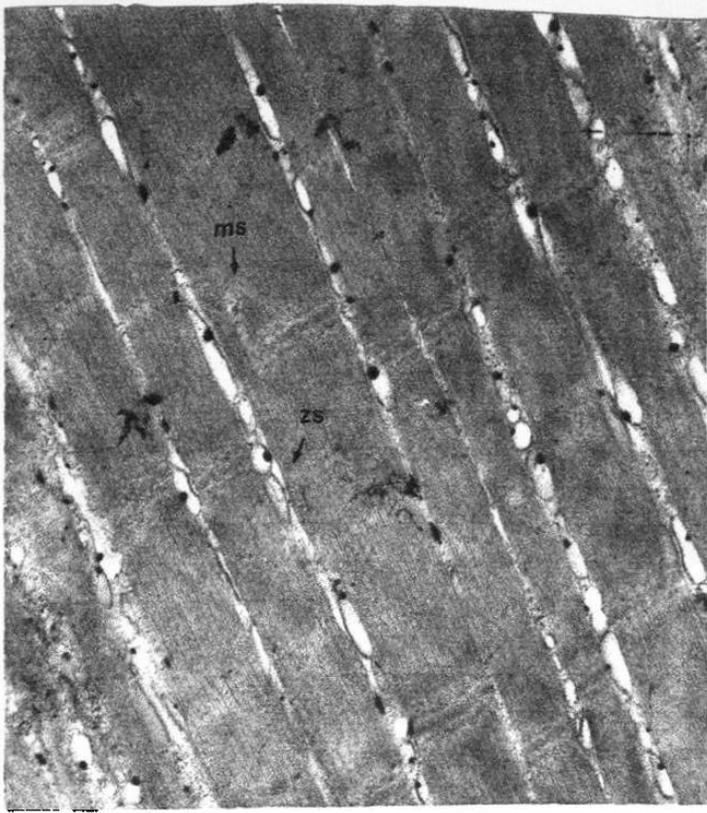


Foto No. 1



Foto No. 2

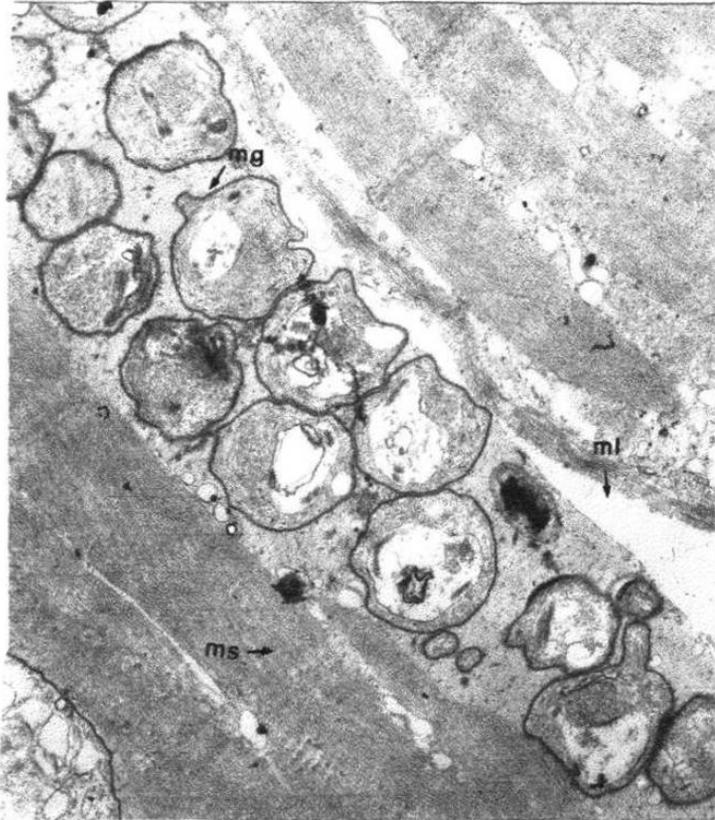


Foto No. 3

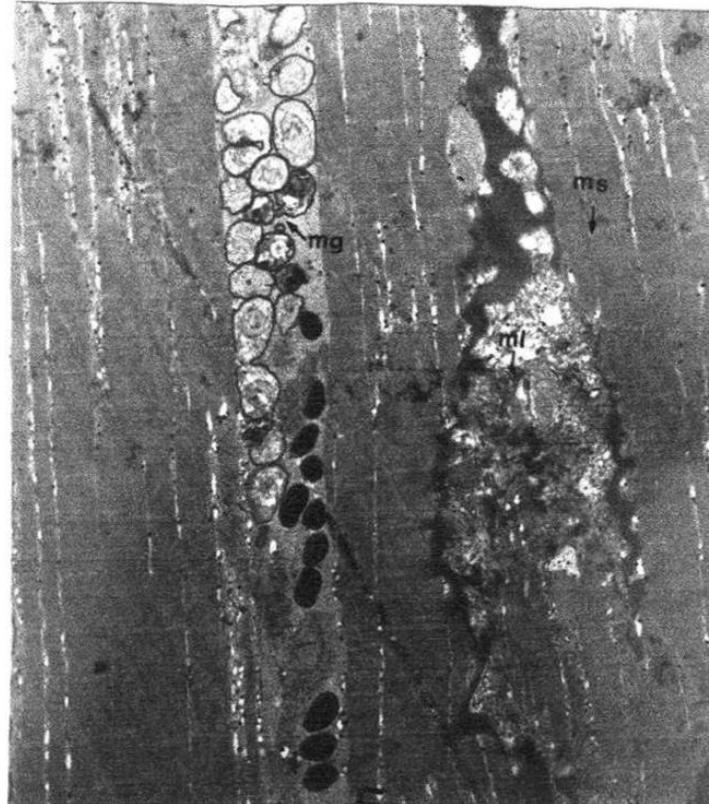


Foto No. 4

**Foto No. 5.-** Esporoblastos delimitados por una membrana (m) con estructuras de complejo de Golgi (cg) que muestra estructuras laminares. 21,171 X.

**Foto No. 6.-** Proliferación de fases iniciales en la merogonia a lo largo del músculo sano (ms), músculo lisado (ml) y merontes en principio de gemación (mg). 4,495 X.

**Foto No. 7.-** Zona dañada por esporas maduras (em) que muestra una pared trilaminar (pt) y músculo lisado (ml). 11,058 X.

**Foto No. 8.-** Esporontes en fase de desarrollo más avanzado, delimitado por una membrana (me) con estructuras granulares (eg), vacuolas (v) y primordios del filamento polar (pfp). 18,725 X.

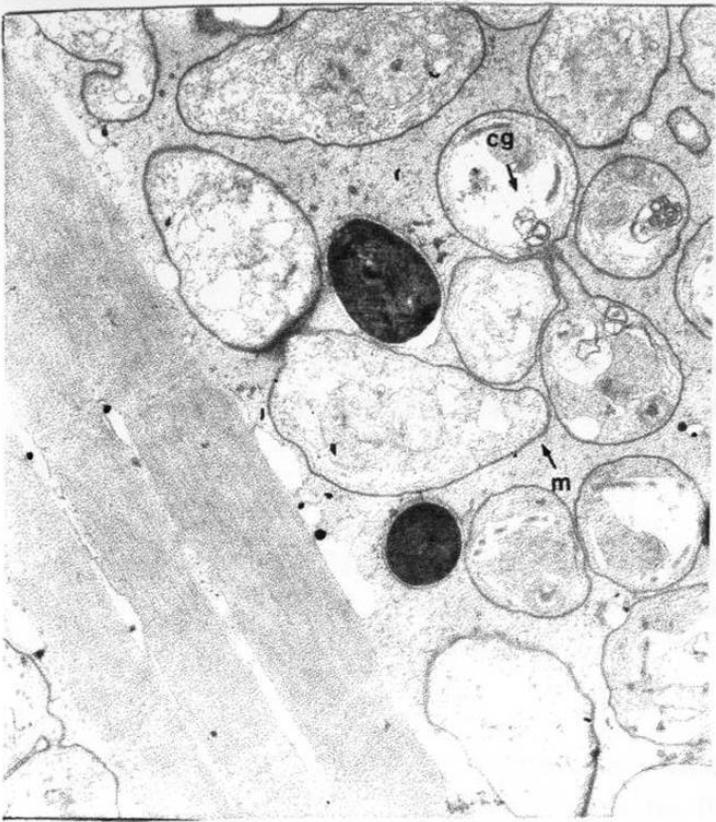


Foto No. 5

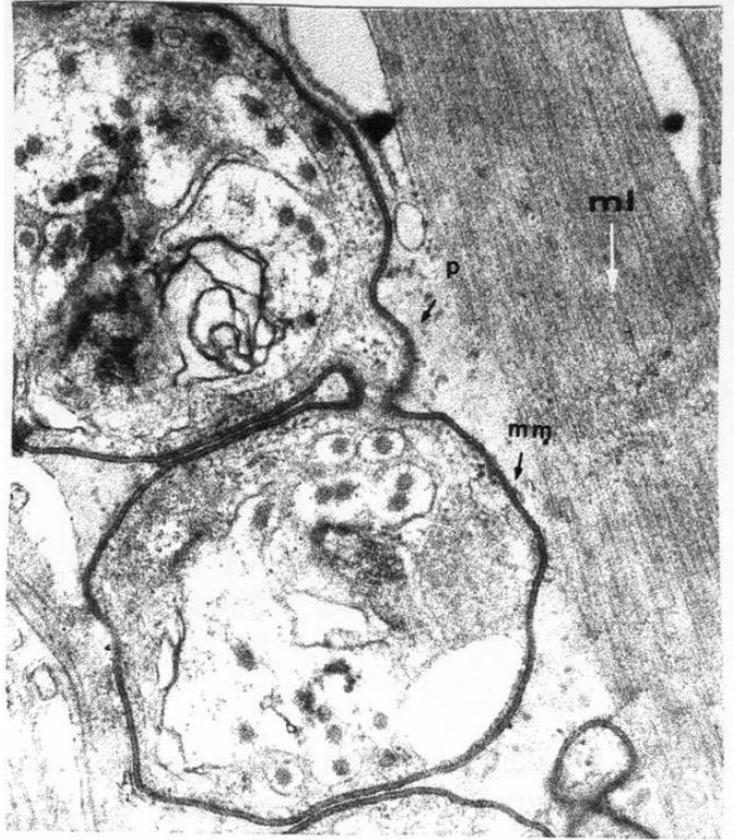


Foto No. 6

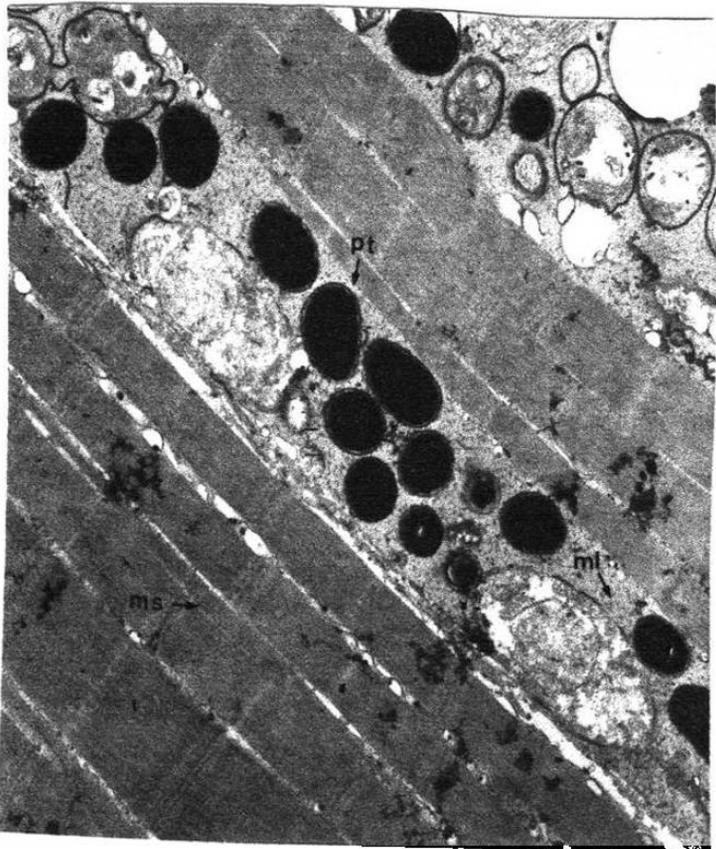


Foto No. 7

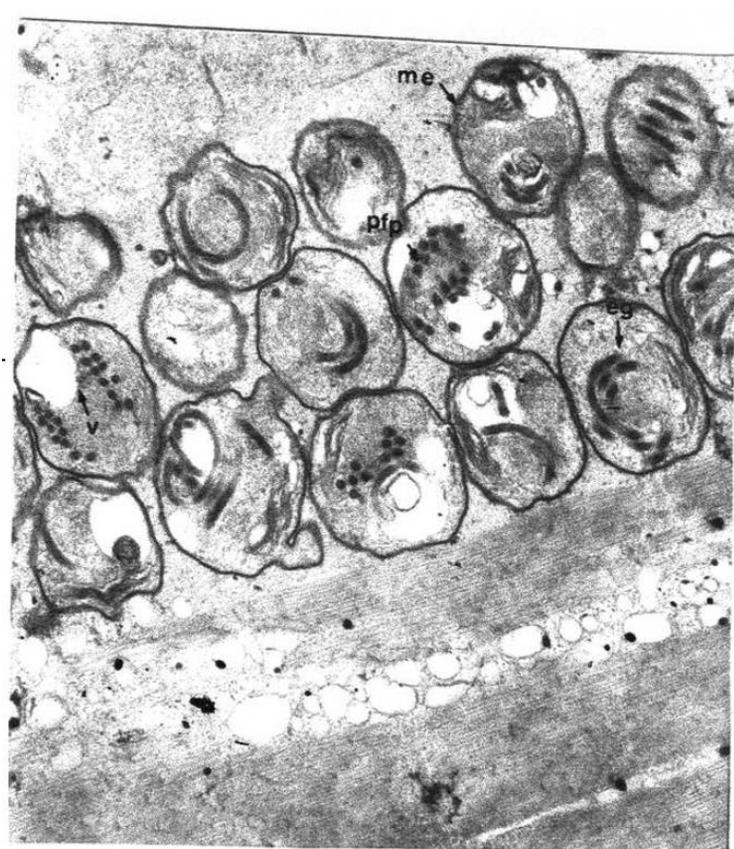


Foto No. 8

Foto No. 9.- Tejido infectado con merontes (me) y esporas maduras (em) en fases de desarrollo más avanzado, con primordios del filamento polar (pfp). 12,416 X.

Foto No. 10.- Espora inmadura que presenta vacuolas (v) y un filamento polar (fp) que se observa formado por dos capas y una condensación central. 64,097 X.

Foto No. 11.- Espora inmadura localizada en zonas dañadas en sistema muscular con un núcleo definido (n), vacuolas (v) y un filamento polar (fp). 65,618 X.

Foto No. 12.- Corte longitudinal a través de tres esporas maduras donde se observa exospora (ex) y endospora (en). 66,183 X.

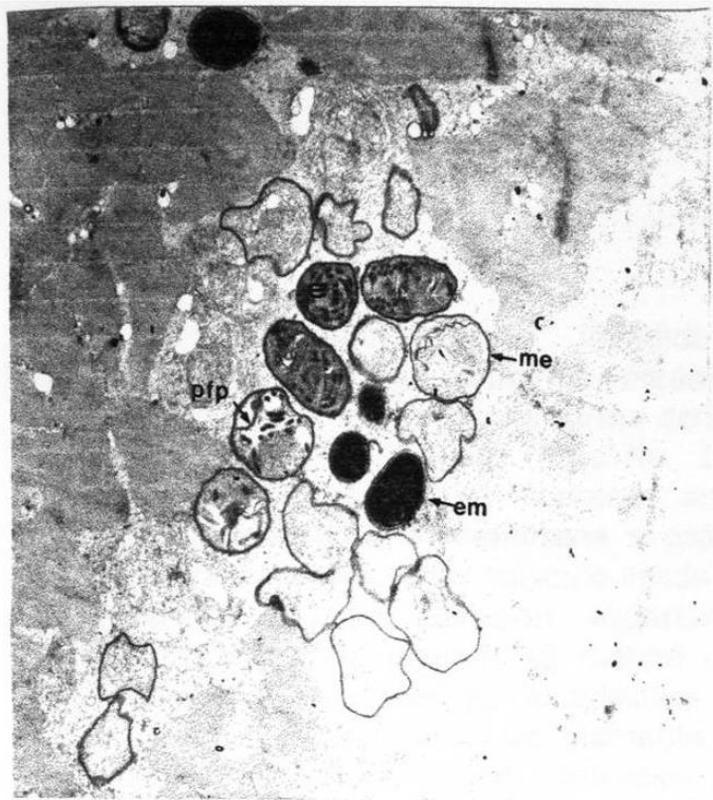


Foto No. 9

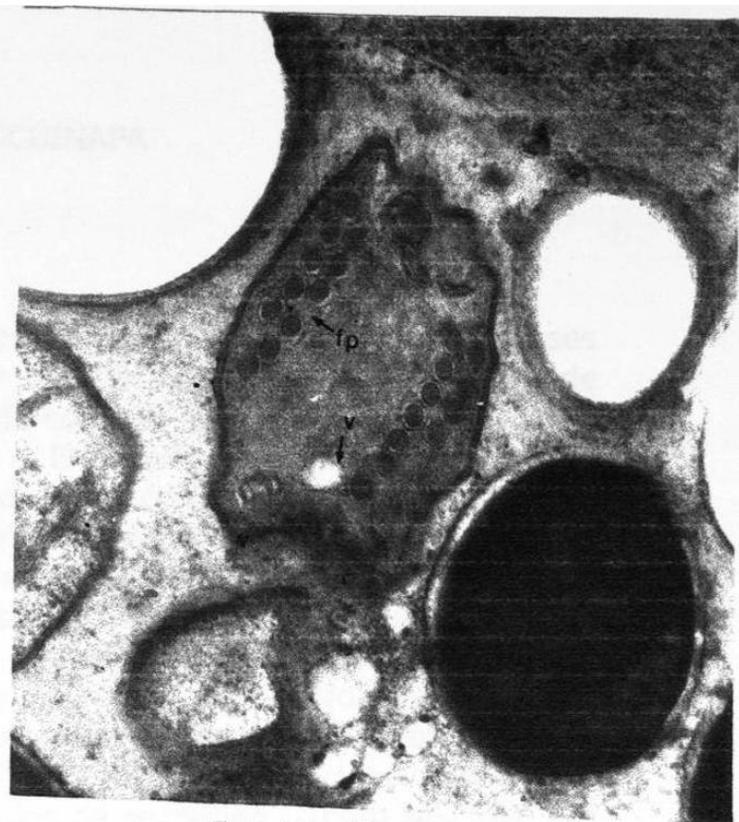


Foto No. 10

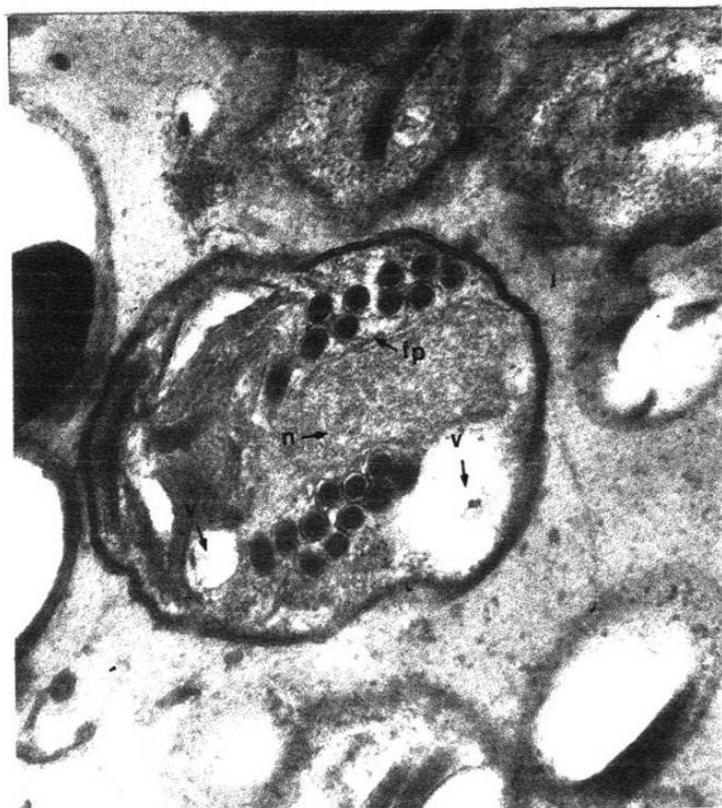


Foto No. 11



Foto No. 12

## MICROSPORIDIOS DE CAMARONES DE ESCUINAPA

Se observó músculo invadido por microsporidios en diferentes fases de desarrollo. Los primeros estadíos fueron merontes en fase inicial de desarrollo, sin tomar alguna forma definida con una membrana que lo delimita y un puente de división. (Foto No. 13) . En corte semifino de tejido muscular se apreció un meronte en división con un puente de división delimitados por una membrana y gránulos de secreción. (Foto No. 14). Se observa músculo sano, músculo lisado y merontes en fase de gemación inicial. (Foto No. 15). Se aprecian esporontes en un estado más avanzado de desarrollo donde además se mostró un núcleo granular y primordios de filamento polar, cisternas y gránulos de secreción. (Foto No. 16). Esporas inmaduras con primordio del filamento polar mas desarrollado (Foto No. 17). Esporontes inmaduros con primordios del filamento polar, nucleos. estructuras granulares, estructuras laminares y gránulos de secreción (Foto No. 18). Las esporas que alcanzaron la madurez, se apreciaron de forma ovalada con una pared trilaminar mostrando la exospora y endospora un disco polar en la parte anterior. Se observó un esporoplasma granular en la parte posterior de la espora, el cual está cubierto por un filamento polar. (Foto No. 19).

## FOTOGRAFIAS ESCUINAPA

Foto No. 13.- Meronte en fase inicial de desarrollo (m) con una membrana que lo delimita (me) y un puente de división (p). 28,000 X.

Foto No. 14.- Corte que muestra un meronte en división (med) con un puente de división (p), membrana del meronte (me) y gránulos de secreción (gs). 16,000 X.

Foto No. 15.- Sección de músculo lisado (ml) que muestra músculo sano (ms) y merontes en gemación inicial (mg). 8,500 X.

Foto No.16.- Esporonte donde se observa la forma ovoide, vacuolas (v), cisternas (c) y gránulos de secreción (gs). 16,000 X.