

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCION DE POSTGRADO



**PATOLOGIAS INDUCIDAS POR LA INFECCION
NATURAL DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA
(WSSV) EN EPIZOOTIAS DE CAMARON BLANCO
Litopenaeus vannamei Bonne (CRUSTACEA: DECAPODA)
REGISTRADAS EN LA GRANJA DE LA SOCIEDAD
COOPERATIVA DE PRODUCCION PESQUERA EJIDAL
"EL PATAGÜE", EN EL DORADO, SINALOA, MEXICO.**

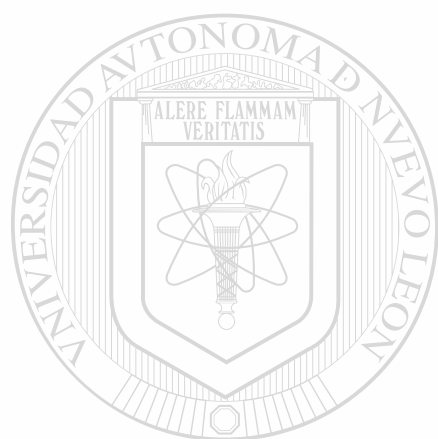
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CON ESPECIALIDAD EN PARASITOLOGIA**

PRESENTA

MARTHA SILVIA TIRADO VELARDE

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. MARZO DE 2002



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

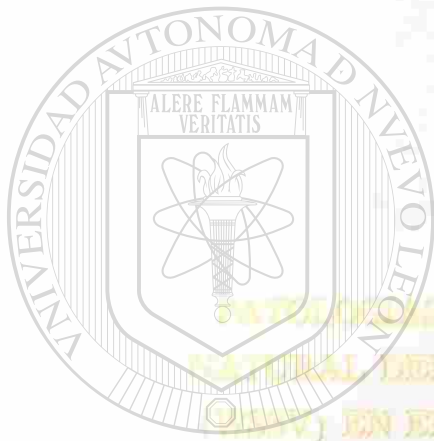


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TESIS

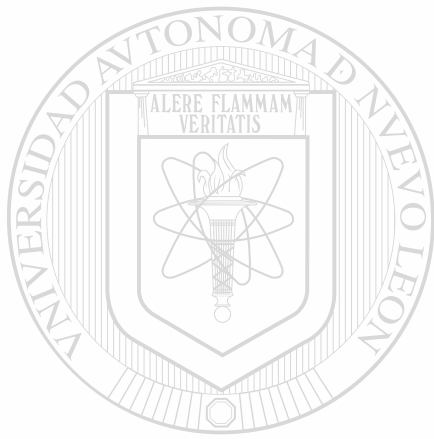
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CON ESPECIALIDAD EN PARASITOLOGIA

PRESENTA

MARTHA SILVIA TIRADO VELARDE

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, N. L. MARZO DE 2003

TM
SH380
.C2
.M6
TS
2002



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE POSTGRADO**



PATOLOGIAS INDUCIDAS POR LA INFECCIÓN NATURAL DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA (WSSV) EN EPIZOOTIAS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* Boone (CRUSTACEA: DECAPODA) REGISTRADAS EN LA GRANJA DE LA SOCIEDAD COOPERATIVA DE PRODUCCION PESQUERA EJIDAL "EL PATAGÜE", EN EL DORADO, SINALOA, MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN PARASITOLOGIA

PRESENTA

MARTHA SILVIA TIRADO VELARDE

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.

MARZO DE 2002

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SUBDIRECCION DE POSTGRADO

PATOLOGIAS INDUCIDAS POR LA INFECCIÓN NATURAL DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA (WSSV) EN EPIZOOTIAS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* Boone (CRUSTÁCEA: DECÁPODA) REGISTRADAS EN LA GRANJA DE LA SOCIEDAD COOPERATIVA DE PRODUCCION PESQUERA EJIDAL "EL PATAGÜE", EN EI DORADO, SINALOA, MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CON ESPECIALIDAD EN PARASITOLOGIA

PRESENTA

MARTHA SILVIA TIRADO VELARDE

COMISION DE TESIS

PRESIDENTE:

FERNANDO JIMÉNEZ GUZMÁN

SECRETARIO:

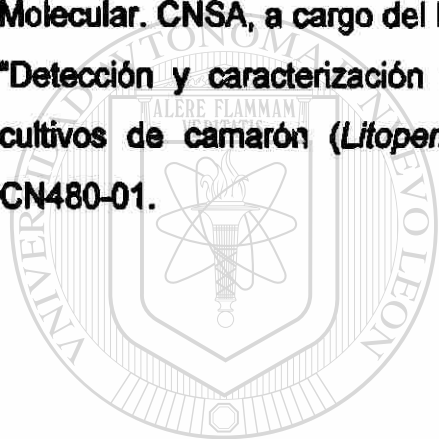
LUCIO GALAVÍZ SILVA

VOCAL:

ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ

San Nicolás de los Garza, N. L. Febrero de 2002.

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Molecular. CNSA, a cargo del Dr. Lucio Galavíz Silva, y con el proyecto PAICIT "Detección y caracterización de los virus que ocasionan epizootias en los cultivos de camarón (*Litopenaeus* spp.) en la Republica Mexicana" Clave CN480-01.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DEDICATORIA

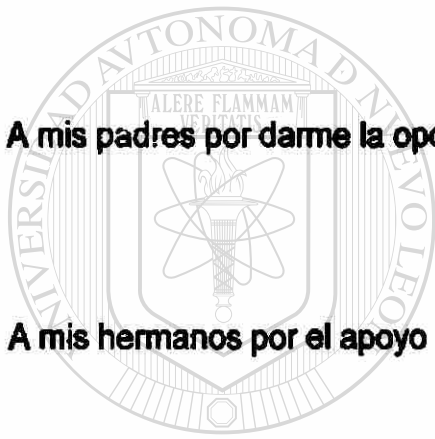
A Dios, nuestro señor por dejarme cumplir una más de mis metas.

A mis hijos; Sonia, Martha Edith y Juan Alfredo, por su cariño y comprensión, por prestarme un poco del tiempo que les pertenecía.

A mi esposo Alfredo por su paciencia y apoyo incondicional.

A mis padres por darme la oportunidad de vivir para realizar mis sueños.

A mis hermanos por el apoyo moral que siempre me han brindado.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Jiménez Guzmán por haberme dado la oportunidad de realizar la tesis en el Centro Nacional de Sanidad Acuícola en la Universidad Autónoma de Nuevo León. Así como por su valioso apoyo como asesor del trabajo.

Al Dr. Lucio Galavíz por su apoyo incondicional no sólo en la realización de la tesis sino en todo el transcurso de la maestría y por su invaluable amistad.

Al Dr. Roberto Mercado por su disponibilidad para atender a todos los tesisistas que se lo solicitan y por haberme ayudado en la parte estadística.

Al personal administrativo de la granja Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera ejidal "El Patagüe" del Dorado, Sinaloa. Así como también al Biólogo Pesquero Baltazar Ramos por la información y las facilidades prestadas para los muestreos necesarios para la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Francisco Iruegas coordinador de la maestría de parasitología.

Al M. en C. Jorge Hernández Piñero por sus comentarios en microscopía electrónica de transmisión.

Al M. en C. Jorge Martínez por sus recomendaciones en histopatología.

Al Q. B. P. Omar Carrizales por sus aportaciones a éste trabajo en el área de microbiología.

A la M. en C. Zinnia Judith Molina por sus consejos profesionales, por ser mi amiga y animarme a seguir adelante.

A mis compañeros de laboratorio; Luvia Rocío Martínez, Eugenia Guadalupe García y Gerardo de la Cerda.

A todo el personal del Centro Nacional de Sanidad Acuícola ubicado en la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Gracias

INDICE GENERAL

I.- RESUMEN.....	1
II.- INTRODUCCIÓN.....	3
III.- HIPOTESIS.....	5
IV.- ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN.....	5
V.- OBJETIVO GENERAL.....	6
VI.- OBJETIVOS PARTICULARES.....	6
VII.- ANTECEDENTES.....	7
VIII.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
IX.- RESULTADOS.....	22
X.- DISCUSIONES Y CONCLUSIONES.....	53
XI.- RECOMENDACIONES	58
XII.- LITERATURA CITADA.....	59

INDICE DE FOTOS

Foto No. 1.- Expansión de cromatóforos rojos en el cuerpo.....	23
Foto No. 2.- Cuerpos de inclusión Coudry tipo A.....	23
Foto No. 3.- Células hipertrofiadas.....	24
Foto No. 4.- WSSV y TSV.....	24
Foto No. 5.- Fase inicial de WSSV.....	26
Foto No. 6.- Cromatina marginada.....	26
Foto No. 7.- Morfología de WSSV.....	27
Foto No. 8.- Estructuras virales.....	27
Foto No. 9.- Fase crónica de TSV.....	29
Foto No. 10.- Cuerpos de inclusión basofílicos.....	29
Foto No. 11.- Cariorexis y picnosis nuclear.....	30
Foto No. 12.- TSV y WSSV.....	30
Foto No. 13.- Deformidad del rostro y del cuerpo por IHHNV.....	32
Foto No. 14.- Cuerpos de inclusión Coudry tipo A.....	32
Foto No. 15.- Trofozoitos de gregarinas del género <i>Nematopsis</i> sp.....	34
Foto No. 16.- Gregarinas del género <i>Nematopsis</i> en estómago.....	34
Foto No. 17.- Tinción en fresco de <i>Zootamnium</i> sp.....	36
Foto No. 18.- <i>Epystilis</i> sp. en forma de campana invertida.....	38
Foto No. 19.- <i>Acineta</i> sp. en branquias.....	40

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Mapa del estado de Sinaloa.....	17
Tabla No. 1.- Bacterias <i>Vibrio</i> sp.....	42
Tabla No. 2.- Registro de los parámetros fisicoquímicos del agua.....	43
Tabla No. 3.- Registro de las enfermedades de camarón.....	44
Tabla No. 4.- Correlación de Spearman.....	45
Tabla No. 5.- Estadísticas descriptivas.....	46
Gráficas de los parámetros fisicoquímicos.....	48
Gráficas de la relación de los parámetros fisicoquímicos con las enfermedades de camarón.....	51

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE ABREVIACIONES

WSSV.- White Spot Sindrome Virus.

TSV.- Taura Sindrome Virus.

IHHNV.- Infectious Hipodermic and Hematopoyetic Necrotic Virus.

YHV.- Yelow Head Virus.

Tm.- Toneladas métricas.

Ton/ha.- Toneladas por hectárea.

Ha.- Hectáreas.

p.p.m.- partes por millón.

mg/Lt.- miligramos por litro.

g/ml.- gramos por mililitro.

g/Lt.- gramos por litro.

mmol/Kg.- milimoles por Kilogramo.

Kb.- Kilobases

KD.- KiloDalton

Km.- Kilómetros.

M.- Molar.

TCBC.- Tiosulfato, Citrato, Sales Biliares y Sucrosa.

TSA.- Agar Soya Tripticas.

H & E.- Hematoxilina y Eosina.

nm.- nanómetros.

µm.- micrómetros.

mm.- milímetros.

cm.- centímetros.

metros.- metros.

ML.- Microscopía de Luz.

PCR.- Reacción en Cadena de la Polimerasa.

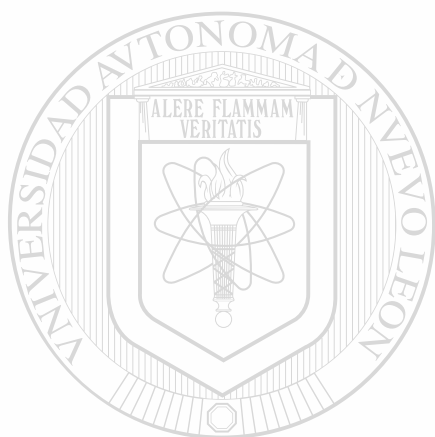
UFC.- Unidades Formadoras de Colonias.

°C.- grados centígrados.

U.A.N.L.- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.

MET.- Microscopía Electrónica de Transmisión.

SEMARNAP.- Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

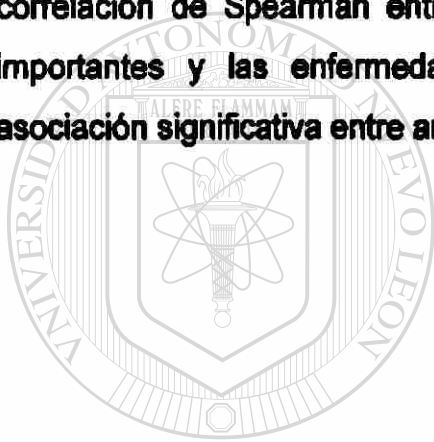
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

I.- RESUMEN

La industria de la camaronicultura ha tomado gran importancia en nuestro país, debido a las grandes inversiones y entrada de divisas, ya que el camarón que se produce es principalmente de exportación, además de generar empleos a miles de personas y dar utilidad a zonas rurales poco productivas para la agricultura. El camarón cultivado ocupa la rama más importante dentro de la acuicultura y es cada vez más aceptable en el consumo humano, sin embargo, los cultivos de camarón son afectados por la presencia de todo tipo de enfermedades entre las que se encuentran las de tipo viral. El objetivo del trabajo de investigación es analizar las patologías causadas por virus, bacterias y protozoarios durante las pérdidas masivas en condiciones de cultivo de la granja camaronícola denominada Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Ejidal "El Patague", ubicada en El Dorado, Sinaloa, México donde la especie cultivada fué *Litopenaeus vannamei*. Se describe al virus de la mancha blanca (WSSV) y otros agentes patógenos que afectan el cultivo de camarón basado en estudios histológicos y de microscopía electrónica de transmisión. Se colectaron los organismos con redes de malla, el muestreo dirigido fué hacia aquellos que presentaron síntomas de enfermedad. Las muestras para histología se fijaron en Davidson AFA y RF, para MET en glutaraldehído 6% a 4 °C y para bacteriología se trasladaron al laboratorio en solución salina 2.5 %. se trabajó en los laboratorios del Centro Nacional de Sanidad Acuicola en la U. A. N. L. El WSSV, en estudio histopatológico se observó en branquias y tejido subcuticular causando principalmente necrosis multifocal con inclusiones virales eosinofílicas o basofílicas intracelulares, cromatina marginal muy marcada, picnosis y atrofia nuclear. El virus del síndrome de Taura (TSV) en branquias y tejido subcuticular, causó lesiones multifocales, inclusiones virales basofílicas, con estadíos iniciales, agudos o crónicos. El virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHNV) se presentó en tejidos branquial y subcuticular, desarrollando los cuerpos de inclusión basofílicos e intracelulares, cromatina marginal, hipertrofia nuclear. En lo referente a protozoarios, se

encontraron gregarinas del género *Nematopsis* sp. en intestino y estómago. Adheridos a branquias y subcutícula: *Zootamnium* sp., *Epystilis* sp y *Acineta* sp. En estudio ultraestructural se presenta a WSSV como partículas no ocluidas en forma de varilla, con una extensión apical envuelta, los cuerpos de inclusión se encontraron en el núcleo de la célula con tendencia hacia las orillas y la cromatina marginal muy marcada. Los viriones midieron 172.61 X 70.23 nm en promedio, la nucleocápside 167.85 X 49.28 nm, la envoltura fué de 12.85 nm y tiene una estructura de pared trilaminar, la pared externa midió 6.90 nm en promedio. Se identificaron bacterias del género *Vibrio*, en mayor cantidad a *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. fluvialis*. Se realizó la correlación de Spearman entre los parámetros fisicoquímicos del agua más importantes y las enfermedades reportadas. Se encontró que no existe asociación significativa entre ambos.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

II.- INTRODUCCION

La producción de camarón cultivado a nivel mundial ocupa el área de la acuicultura con mayor crecimiento. En años recientes la camaronicultura ha aportado hasta el 25-30 % del camarón que se comercializa en el mercado mundial. Existen granjas camaroneras en más de 55 países alrededor del mundo pero la producción se concentra en unos 10-12 países del Sudeste Asiático y América Latina (Rosenberry, 1999).

Ultimamente las enfermedades virales se han hecho más severas causando serios estragos en la industria, limitando la producción y expansión de la camaronicultura (Lightner *et al.*, 1997).

Se han reportado mortalidades masivas de camarón en el sureste Asiático, causadas por el virus de la cabeza amarilla (Yellow head virus= YHV) y el virus de la mancha blanca (White spot syndrome virus = WSSV) (Flegel *et al.* 1997).

En América el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus= IHNV) y el síndrome de taura (Taura syndrome virus= TSV) también han provocado pérdidas millonarias (Lightner, 1997).

Las especies más cultivadas en México son *Litopenaeus vannamei* Boone y *Litopenaeus stylirostris* Stimson, los estados que más producen son: Sinaloa, Sonora y Nayarit. (Rosenberry, 1997; SEMARNAP, 1998).

Durante 1998 la producción de camarón cultivado alcanzó niveles récord con un volumen estimado en 737 200 Toneladas métricas (Tm), 12% más comparadas con 1997, de las cuales el hemisferio oriental produjo el 72% y el occidental el restante 28 %.

En 1999 la producción se estimó en 814 250 Tm, lo cual representa un aumento del 10 % con respecto a la producción de 1998. El hemisferio oriental produjo un 79 % de la producción anual en 1999, un aumento del 21 % con respecto al año anterior. El hemisferio occidental produjo unas 71 500 Tm que significan el 21 % de la producción mundial, una disminución del 17% en relación a 1998. Tailandia ocupa por octavo año consecutivo el primer lugar en la producción

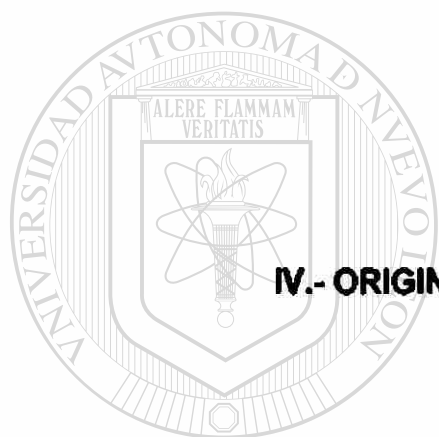
mundial en camarón cultivado a pesar de los problemas de enfermedades causadas por virus; su producción disminuyó de 220 000 Tm a 160 000 en 1996 y en 1997 bajó hasta 150 000. El segundo lugar a nivel mundial y primero en Latinoamérica lo ocupa Ecuador, con 253 000 Tm en 1998 y 206 000 Tm en 1999, sin embargo en los primeros meses del año 2000 la producción se desplomó en un 80 %, se reportaron pérdidas hasta de 1 000 millones de dolares por WSSV. México posee el segundo lugar en America y séptimo a nivel mundial, nuestro país ha logrado mantener un nivel de desarrollo en esta actividad arriba del 15 % de crecimiento anual desde 1992.

En el 2000 los virus WSSV y TSV afectaron la actividad, causando mortalidades por encima de lo habitual y originando cosechas tempranas de tallas pequeñas, aún así la producción obtenida por la camaronicultura del estado de Sinaloa que es el principal productor llegó en el año 2000 a 15 454 Tm que significan un incremento del 12 % en relación al año anterior en el que la producción alcanzó 13 131 Tm. En cuanto a valores, debido a la disminución de exportaciones por las tallas chicas provenientes de las cosechas de pánico, que no tienen un mercado atractivo de exportación, se obtuvieron 34.5 millones de dolares contra los 44.8 millones del año anterior significando un diferencial a la baja del 22 %. (FAO 2000 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). En México se explotan 20 000 Hectáreas (Ha) en 220 granjas camaronícolas.

Actualmente la producción de camarón cultivado está dominado por unos cuantos países; ésta tendencia posiblemente no cambie en el futuro inmediato, pero los países más productivos hoy podrían no ser los del mañana. En los países desarrollados como Estados Unidos que importa actualmente cantidades de camarón con valor superior a los 3 billones de dólares, se llevan a cabo grandes esfuerzos para desarrollar tecnologías de producción superintensivas con recirculación de agua y es posible que en el futuro las granjas de América Latina y Asia tengan que competir con éstas granjas superintensivas.

III.- HIPOTESIS

El establecimiento de agentes virales disminuyen la resistencia o inmunodeprimen al camarón favoreciendo infecciones secundarias por otros microorganismos patógenos u oportunistas provocando la mortalidad masiva de los crustáceos en condiciones de cultivo.



IV.- ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN

El presente estudio es el primer análisis sistemático donde se aplican las técnicas histopatológicas y ultraestructurales para determinar los agentes etiológicos de la severa epizootia ocurrida en las instalaciones de la comunidad ejidal "El Patagüe" localizada en El Dorado, Sinaloa, México.

V.- OBJETIVO GENERAL

Analizar las patologías causadas por virus, bacterias y protozoarios durante las pérdidas masivas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en condiciones de cultivo de la granja camaronícola Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Ejidal "El Patagüe" en El Dorado, Sinaloa.

VI.- OBJETIVOS PARTICULARES

- 1).- Identificar y confirmar la presencia del virus WSSV, como patógeno primario al microscopio electrónico de transmisión.
- 2).- Identificar los agentes patógenos secundarios u oportunistas que afectan el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* en base a estudios histológicos.
- 3.- Cuantificar e identificar las bacterias *Vibrio spp.* presentes en los camarones enfermos.
- 4.- Relacionar los parámetros fisicoquímicos del agua con las enfermedades de camarón.

VII.- ANTECEDENTES

Los antecedentes más importantes en lo que se refiere a enfermedades de camarones peneidos, son los que se describen, de acuerdo al criterio de Lightner (1995) quien dividió como enfermedades de tipo infeccioso a las causadas por virus, bacterias, hongos, protozoarios; microsporidios y gregarinas, y como enfermedades de tipo no infeccioso a las ocasionadas por epicomensales como las bacterias, protozoarios epicomensales y algas.

1.- Síndrome de la mancha blanca (WSSV)

Flegel *et al.* (1996) consideran que los virus WSSV y YHV pueden afectar al mismo camarón concurrentemente y han causado grandes mortalidades en granjas camaronícolas cultivadas, en estudios realizados en camarones peneidos de Asia .

Nunan *et al.* (1997) detectaron dos virus que causan grandes mortalidades en camarón cultivado en Asia en 1992, que son WSSV y YHV, mientras que en Texas fueron detectados en 1995. En este estudio comprobaron la presencia de estos virus en camarones congelados importados de Asia. Mencionan que WSSV ha sido determinado como causa de mortalidades masivas en Asia (a menudo alcanzando del 80 al 100 %) de la población afectada. El YHV también ha causado serios decesos en camarón cultivado (Chantanachookin *et al.* 1993; Boonyaratpalin *et al.* 1993; Wongteerasupaya *et al.* 1995).

Durand *et al.* (1997) publicaron que las infecciones causadas por WSSV son típicamente acompañadas por la presencia de manchas blancas en la cutícula. Describe al virión de WSSV como una partícula de forma alargada con una extensión apical envuelta. Nucleocápside cilíndrica con finales asimétricos, y apariencia superficial segmentada. La replicación de WSSV ocurrió en el núcleo

y esta indicado primero por marginación de cromatina e hipertrofia nuclear. La morfogénesis viral empieza por la formación de membranas de novo en el nucleoplasma y por la elaboración de túbulos largos, vacíos segmentados, éstos túbulos se rompen en fragmentos para formar nucleocápsides vacíos desnudos. Después de eso las membranas envuelven los cápsides dejando una extremidad abierta. Las nucleoproteínas las cuales tienen una apariencia filamentosa entran a los capsidios a través de ésta abertura final. Cuando el corion está completamente formado, la envoltura se angosta en la abertura final y forma la cola apical de el virión maduro. Reporta que el virión mide cerca de 250X100 nanómetros (nm). La envoltura de 6 a 7 nm de grosor y tiene una estructura de pared trilaminar. El área entre la nucleocápside y la envoltura varía de 2 a 7.5 nm. La nucleocápside es un cilindro de cerca de 200X65 nm con unos 6 nm de grosor de la pared externa. El core de la nucleocápside es electrodensó.

Galavíz (1999) mencionó que en cortes histológicos de camarón *Litopenaeus vannamei* Boone del Pacífico Mexicano infectado con WSSV encontró cuerpos de inclusión Cowdry, Tipo A, eosinofílicos ó basofílicos e intracelulares. Estos se observan en tejidos branquiales, tejido conectivo esponjoso, tejido muscular y tejido epitelial de la subcutícula e intestino medio anterior. La hipertrofia nuclear observada en las células dañadas, es más común en las fases tempranas de la enfermedad, donde estos se manifiestan como cuerpos eosinofílicos. Por el contrario los cuerpos de inclusión basofílicos corresponden a las fases tardías, se observa la cromatina marginal y atrofia nuclear. El complejo de virus que causan el síndrome se aloja en células de origen endotelial y mesodérmico, como se describió originalmente en brotes de Asia. En tejido conectivo adyacente a las glándulas antenales presentan cuerpos de inclusión eosinofílicos en menor grado de infección en comparación a los filamentos branquiales. Además de los cuerpos de inclusión se detecta necrosis masiva en epitelio cuticular y branquias, se observa la cariomeiosis y picnosis

nuclear. En estos casos el desarrollo de cuerpos de inclusión basofílicos con la cromatina marginal es la más frecuente.

2.- Síndrome de Taura (TSV)

Jiménez (1996) y Casillas (1994) coincidieron en que el TSV fue aislado por primera vez en junio de 1992 en granjas camaroneras localizadas en la boca del río Taura en el Golfo de Guayaquil, Ecuador, de ahí su nombre y se ha extendido a la mayoría de las granjas del Perú, Colombia, Honduras, Hawai, Estados Unidos y México.

Pantoja (1995) menciona que el TSV ha sido catalogado como un picornavirus, debido a su tamaño pequeño de 30 nm aproximadamente, a su forma icosaédrica y a que su genoma está constituido por una cadena simple de ácido ribonucleico.

Buenaventura (1996) reporta que TSV puede presentarse tanto en camarones silvestres como en camarones de laboratorio, la sintomatología es específica ya que solo afecta camarones entre 0.5 y 3.0 gramos (g) de peso. La infección se adquiere principalmente durante el período de muda. El exoesqueleto presentó color rosado-claro, con manchas de color marrón claro debajo de la cutícula debido a múltiples lesiones melanizadas en la epidermis cuticular. Los camarones infectados presentan típicamente el intestino vacío y nadan erráticamente siendo presa fácil de las aves. Estudios histológicos revelaron necrosis multifocal en la epidermis cuticular, con estadios iniciales y agudos ó crónicos, con ausencia virtual de inflamación ó infiltración de hemocitos. No se observan alteraciones en la organización celular y de tejidos del hepatopáncreas y no fue común la infección por bacterias quitinoclásticas en el exoesqueleto ni la presencia de virus u otros patógenos en las lesiones de estos camarones.

Lightner *et al.* (1995) utilizaron *Litopenaeus vannamei* para sus experimentos los cuales presentaban los signos macroscópicos característicos de TSV en la fase preaguda y de recuperación o crónica, colectados en granjas del Ecuador, Perú y Colombia. Comentan que los signos microscópicos inician en fase de postlarva de 14 a 40 días los camarones son de 0.1 a menos de 5 g pero también los camarones grandes pueden ser afectados con menor frecuencia. Los organismos moribundos presentan expansión de cromatóforos rojos en los apéndices, especialmente en los urópodos, telson, pleópodos y en la superficie del cuerpo. Los camarones que mostraron estos signos de TSV preagudo estaban típicamente en el estadio D tardío del ciclo mudal y por eso presentaron una cutícula suave y el intestino vacío. El TSV preagudo culmina con la muerte durante el proceso mudal. Los sobrevivientes desarrollan lesiones cuticulares melanizadas similares a la enfermedad bacteriana del caparazón, con o sin cutícula suave y expansión de los cromatóforos rojos con un comportamiento normal y buena alimentación. Se propuso que es la segunda fase de la enfermedad y que los camarones presentan signos de recuperación o una forma crónica de TSV.

En histopatología las lesiones se caracterizan por áreas multifocales de necrosis en el epitelio cuticular de la superficie general del cuerpo, todos los apéndices, branquias, intestino posterior, esófago y estómago. Rara vez el epitelio tubular de las glándulas antenales es afectado. Frecuentemente el tejido conectivo subcuticular y fibras musculares estriadas basales adyacentes al epitelio cuticular estuvieron involucradas. Fueron características las lesiones multifocales cuticulares y extremadamente abundantes los cuerpos de inclusión esféricos citoplasmáticos (1 a 20 micrómetros (μm) de diámetro).

El estudio ultraestructural de las lesiones multifocales en casos preagudos confirmó las observaciones en Microscopía de Luz (ML). Las inclusiones intracitoplasmáticas esféricas fueron abundantes en los tejidos afectados (branquias, epitelio cuticular, subcutícula y músculo de apéndices) observándose de electrodensos a electrolúcidos. Se encontró que algunos contenían cristales en forma de aguja. La morfología de estos cristales fue

idéntica a la reportada para el fosfato de calcio asociados a la patología de las lesiones causadas por TSV lo cual se considera que apoya la hipótesis de la etiología tóxica.

SEMARNAP (1998) consideró que en México en el transcurso de 1995-97 se detectaron casos agudos y crónicos de un síndrome semejante en granjas camaronícolas de la República Mexicana, sin embargo autoridades sanitarias negaron que se tratara de TSV, identificándolo como NEC (necrosis del epitelio cuticular) y "síndrome similar al Taura". La enfermedad afectó al 50 % de la producción de Nayarit, invadiendo 40 de las 90 granjas de la entidad. En los estados de Sinaloa y Sonora la producción de camarón blanco fue abatida en porcentajes de 40 al 70 % de las granjas. En Sinaloa la enfermedad se presentó en camarones de 1 a 15 g durante el proceso de muda, la diferencia fue que ésta última solo se había reportado en organismos de menos de 5 g.

3.- Virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV).

Bonami *et al.* (1990) describen el virus IHHNV como no envuelto, de forma icosaédrica, de una medida aproximada a los 22 nm de diámetro y una densidad de 1.40 gramos por mililitro (g/ml) en cloruro de cesio, el genoma como una molécula de DNA de cadena simple con un tamaño aproximado de 4.1 Kilobases (kb). En cuanto a las proteínas de la cápside determinadas por electroforesis en geles de acrilamida, menciona cuatro polipéptidos aproximados a las 74 KiloDalton (kD), 47 kD, 39 kD y 37.5 kD respectivamente; de acuerdo a éstas características se propuso como un virus perteneciente a la familia de los parvovirus.

Lightner *et al.* (1991 a) llevan a cabo un seguimiento de la introducción de IHHNV en camarones cultivados del noroeste de México, mencionan que antes de 1989 no existían casos de IHHNV en granjas camaronícolas que rodean el Golfo de California o en cultivos derivados de esa región de México, los primeros diagnósticos positivos son de 1989-1990 en sitios previamente

negativos para el virus. Involucran a los camarones importados como la fuente de IHNV que causó severas epizootias, en el Estado de Sonora, que coincidieron con la introducción de larvas de *Litopenaeus vannamei* adquiridas en Centro América y Estados Unidos en esos años.

Zenyuan (1996) destacó que la República de China alcanzó el mayor crecimiento a nivel mundial en cultivo de camarón en tan sólo 10 años (1981-1991), la superficie cultivada se multiplicó en 11.3 veces y la producción 60.8 veces. Sin embargo en 1993 se presentó una epizootia provocada por el virus IHNV que afectó a la mayoría de las granjas, causando grandes pérdidas económicas.

4.- Otros virus causantes de enfermedades en camarones peneidos

Lightner *et al.* (1989) reportan a (Baculovirus *Penaei*= BP) como el primer virus descrito de los que afectan a los cultivos de camarón, el cual representa una distribución geográfica amplia para *Litopenaeus stylirostris* Stimpson que incluye de Florida a Texas en el Golfo de México, Brasil, Perú, Ecuador, Panamá y Costa Rica. Informan de ocluciones virales en larvas de *L. stylirostris* con prevalencias del 100 %. La frecuencia y severidad de la infección se agudiza en el estadio de misis y persiste hasta postlarva. Las características citopatológicas concuerdan con las que se presentan en *Farfantepenaeus duorarum* Burkenroad y *Penaeus aztecus* Ives, pero las características únicas observadas son la remarcada afinidad de ubicarse en los microfilamentos nucleares pero no en el citoplasma.

Lightner (1995) menciona que entre los agentes más importantes que causan enfermedades en los camarones peneidos se encuentran los virus como IHNV, BP, (Monodon baculovirus= MBV), Parvovirus hepatopancreático (Hepatopancreatic parvovirus= HPV) y Baculovirus de la glándula del intestino medio (Baculoviral midgut gland necrosis= BMN).

5.- Enfermedades causadas por bacterias *Vibrio* spp.

Lightner *et al.* (1991a) hacen una revisión de las enfermedades de mayor importancia económica en camarones de las Américas y del Indopacífico, encontrando a *Vibrio luminiscentes* en larvas de *Penaeus monodon* Fabricius y *Penaeus. merguensis* de Men en Indonesia, Tailandia y Filipinas en las cuales colonizó los apéndices bucales y la cavidad oral, causando mortalidades epizooticas, también detectaron vibriosis en cultivos de *Penaeus japonicus* en Malasia e Indonesia como el causante de serias enfermedades, debido a que infectan órgano linfoide desarrollando nódulos hemocíticos melanizados. Además reportan los casos de Ecuador y Texas donde la especie afectada fué *L. vannamei*.

Zenyuan (1996) describe otras patologías de las más comunes, como han sido la enfermedad de los apéndices rojos causada principalmente por una bacteria del género *Vibrio* spp. y la enfermedad de las adherencias, ocasionada por protozoarios *Zoothamnium* spp. y *Epystilis* spp.

Benaventura (1996) menciona que Ecuador alcanzó su mayor crecimiento en 12 años (1977-1989), período en el cual multiplicó la superficie cultivada 41.9 veces, cuadruplicando sus exportaciones. Sin embargo en 1990 se presentó por primera vez una epizootia provocada por una enfermedad llamada "síndrome de la gaviota", la cual redujo considerablemente la producción. También reporta la hepatopancreatis necrotizante (HPN), causada principalmente por bacterias intracelulares similares a rickettsias. La necrosis infecciosa de la epidermis cuticular (NIEC), causada por bacterias intracelulares y/o virus; "enteritis hemocítica bacteriana" (EHB) la cual ha sido asociada directamente a la presencia masiva de gregarinas. También han sido reportadas bacterias Gram negativas, principalmente del género *Vibrio* spp. en estómago e intestino.

6.- Gregarinas y protozoarios epicomensales.

Lightner *et al* (1995) describieron por lo menos tres géneros de gregarinas (Protozoa:Apicomplexa) que afectan cultivos de camarones *Nematopsis* spp., *Cephalolobus* spp. y *Paraophioidina* spp. considera que las poblaciones afectadas severamente pueden reducir su crecimiento y disminuir el factor de conversión alimenticio, los individuos pueden presentar coloración amarillenta del intestino medio, vista en la cutícula del abdomen. En larvas y postlarvas los tofozoitos de gregarinas fueron fácilmente visibles a 10X o 20X, o en preparaciones frescas directamente (fase o campo de luz brillante reducido). La infección ocurrió a través de hospederos intermediarios como moluscos y anélidos. En este grupo de gregarinas pueden ser inter o intracelulares, las células del hospedero pueden ser destruidas por las intracelulares, la mayoría de las especies no son consideradas patogénicas. El daño a la mucosa del intestino medio puede proveer una ruta de entrada a una bacteria letal por vibrios oportunistas.

Alessio (1996) detectó en camarón blanco *L. vannamei* los protozoarios ciliados *Zootamnium* sp, *Epistilis* Doflein y *Acineta* Doflein en branquias, exoesqueleto y pereiópodos, al gregarínido *Nematopsis* Sprague en intestino medio y posterior.

Clifford (1997) mencionó que aunque las gregarinas no impactan de manera directa la salud del camarón, afectan la digestión de los nutrientes y sus órganos de fijación sobre el epitelio del tracto intestinal pueden crear puntos de penetración para una invasión bacteriana.

7.- Parámetros fisicoquímicos del agua.

Boyd (1990) mencionó algunos rangos ideales en el cultivo de camarón , tales como; temperatura 26-28 °C, salinidad 15 a 25 gramos por litro (gr/Lt), pH 6.5 a 9, alcalinidad 20 ppm. para *P. vannamei*.

Clifford (1997) mencionó rangos ideales de temperatura de 28-32 °C, oxígeno disuelto de 3.0-6.0 p.p.m., salinidad de 14-45, pH 8.1-9.0, alcalinidad de 100-140, disco de Sechi de 35-45 centímetros (cm), amonía total de 0.1-1.0, amonía no ionizada menor a 0.10, sulfato de hidrógeno 0.10 p.p.m., nitrito (NO₂) menos de 0.10, nitrato (NO₃) 0.4-1.4, nitrógeno inorgánico 0.5-2.0 mg/Lt, clorofila-a 50-75 mg/Lt, sólidos totales en suspensión 50-150 miligramos por litro (mg/Lt).

De la Cerda (1999) reportó que la temperatura durante el ciclo de cultivo osciló entre 30.3 a 30.4 y la concentración de oxígeno disuelto de 4.0 a 4.7, ambos en los rangos recomendados por los diferentes autores, la salinidad varió de 34.66 a 38.66 g/Lt., la dureza tuvo un promedio de 7430.8 mg/lt., la cual se considera muy dura puesto que excede los 300 mg/Lt. recomendados, hace notar que estos resultados son aptos para un cultivo de camarón ya que se obtuvieron cosechas record hasta de 3750 Toneladas por hectárea (Ton/ha).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

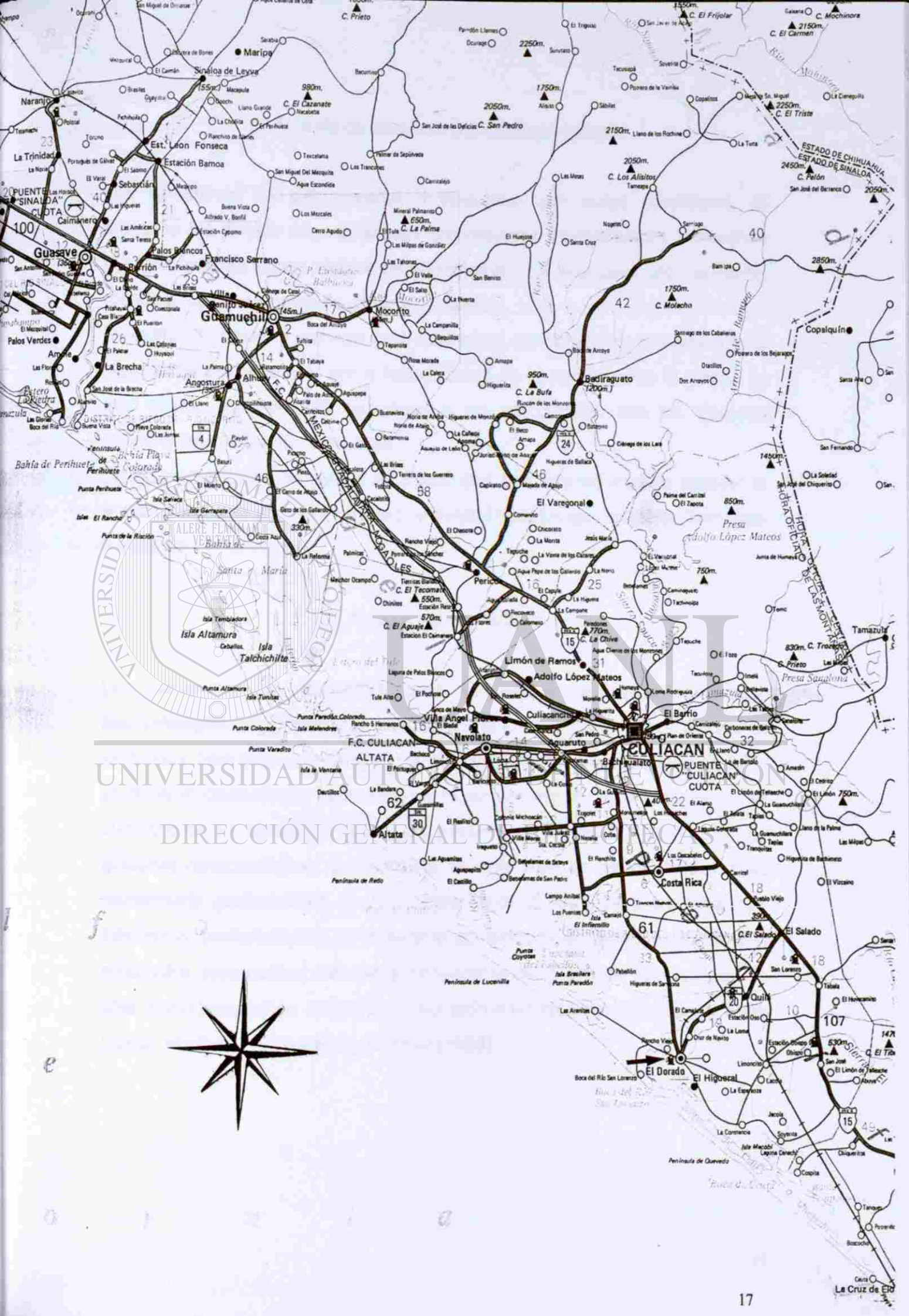
VIII.- MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Descripción del area de estudio.

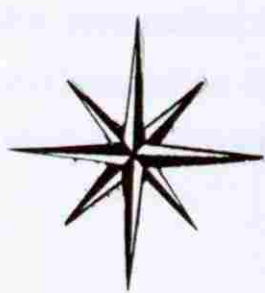
La Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera "El Patague" se encuentra localizada en el municipio de El Dorado, Sinaloa, a 54 Kilómetros (Km) al sur de la ciudad de Culiacán, en las costas del estado de Sinaloa. (Mapa 1).

Es una sociedad conformada por más de 50 socios que en algún tiempo fueron ejidatarios, pero cambiaron el uso de las tierras debido a que eran poco productivas para la agricultura y percibieron que se podía aprovechar la cercanía del mar para establecer cultivos de camarón.

Existen más de 100 estanques que van desde 15 hasta 20 hectáreas (Ha). El suelo de los estanques es fangoso arenoso. La profundidad media es de 1.50 metros (m). La zona se caracteriza por tener clima subtropical-tropical, húmedo. Los vientos predominantes son los del noroeste en Invierno y los del suroeste en verano. Hay un período de lluvias en agosto, septiembre y enero, acompañado de tormentas tropicales o chubascos (Servicio Meteorológico de la SARH, 1991-1992). Los estanques muestreados fueron nueve: 3B4, 4C, 1B, 3B5, 4F1, 3B5, 4A2, 2S2, 4Cres. Se escogieron únicamente esos estanques debido a la dificultad para realizar los muestreos ya que se necesita contar con recursos económicos y humanos además de ser de los que presentaron más problemas de enfermedades desde el principio de la siembra. El camarón sembrado proviene del medio silvestre o de diferentes laboratorios. Se sembraron tres especies de camarón; blanco, azul y café. Se trabajó con organismos provenientes de laboratorios. La especie estudiada fué camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA
DIRECCIÓN GENERAL DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA



2.- Método de muestreo y análisis de campo.

Los camarones se seleccionaron moribundos, con redes (atarrayas). El muestreo fué dirigido a los estanques con mayores mortalidades y camarones que presentaban signos visibles de enfermedad. En este caso una coloración rosada a rojiza en la mayoría de los organismos.

Se realizó 1 muestreo mensual en 9 estanques, se obtuvo un promedio de 25 organismos por estanque, por la imposibilidad de muestrear toda la granja, ya que existen más de 100 estanques y no se contaba con los recursos económicos y humanos necesarios.

Se hizo un exámen de campo en fresco que consiste en analizar primero la anatomía externa de los camarones, y después estómago, intestino, branquias y músculo.

3.- Análisis histopatológico.

Los camarones se procesaron para su estudio siguiendo la técnica histopatológica de Lightner *et al.* (1983,1985) la cual comienza con la fijación de los tejidos, para esto se inyectaron los organismos con solución Davidson AFA, se cortaron longitudinal y transversalmente, se pasaron a moldes, los cuales se sumergieron en alcohol al 70% y se pasaron al procesador automático de muestras histopatológicas que consiste en una serie de baños de alcoholes aumentando gradualmente de 70% hasta llegar a 100% para deshidratarlas totalmente, posteriormente se incluyeron en bloques de parafina, que fueron empleados para realizar los cortes histológicos de 5 μ m de espesor que se tiñeron en Hematoxilina & Eosina. De acuerdo a las técnicas descritas por Luna (1968), Martínez (1981) y Bell y Lightner (1988).

4.- Microscopía electrónica de transmisión.

Se tomaron muestras frescas (1 cm³), que se fijaron en glutaraldehído al 6% a 4 °C en solución amortiguadora de fosfatos 0.1 Molar (M), se añadió NaCl al 3 % hasta ajustar osmolaridad entre 700 y 800 micromoles por kilogramo (mmol/kg), a un pH de 7.2. Posteriormente las piezas se lavaron en solución amortiguadora de fosfatos 0.15 M y pH 7.2 por 5 minutos, se pasaron al fijador utilizando tetraóxido de osmio por lo menos una hora y posteriormente se deshidrataron en una serie de baños de etanol (70, 80, 90 y 100 %) durante 10 minutos cada uno, el último cambio se realizó 3 veces.

Las muestras ya deshidratadas se pasaron a óxido de propileno, se embebieron en resina Embed-812 y se incluyeron en cápsulas de polietileno a 60 °C por 48 horas. Una vez formado el bloque se hicieron cortes semifinos de 0.5 µm de grosor con cuchilla de vidrio o cuchilla de diamante y se tñieron con azul de toluidina.

Se seleccionaron los bloques donde se detectaron enfermedades y se hicieron cortes ultrafinos de aproximadamente 0.1 µm en un ultramicrotomo Porter Blum MT-1 con cuchilla de vidrio o de diamante. Se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo por 1 minuto y se volvieron a lavar en agua destilada (Dawes, 1988).

Los cortes se examinaron y fotografiaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss Em-190 para su interpretación.

Las medidas de los viriones se obtuvieron con la ayuda de un lente de aumento (10X) con escala graduada en décimas de milímetros y se transformaron en dimensiones reales con la fórmula siguiente:

$$Tf = Tr \times Af$$

Tr= Tamaño real del virus

Tf= Tamaño de la foto

$$Tr = \frac{Tf}{Af} = \frac{Xmm \times 10^6}{Af} = Xnm$$

Af= Aumento de la foto

Considerando que: 1 mm = 10⁶ nm

5.- Análisis bacteriológico.

a).- Toma de muestras y diagnóstico presuntivo.- En el campo se midió el tiempo de coagulación de la hemolinfa tomando como referencia los 20 segundos de límite para coagular para un diagnóstico positivo preliminar Lightner (1996), se realizaron análisis en fresco de hemolinfa entre cubre y portaobjetos, se observaron al microscopio para verificar la presencia de bacterias. Se colocaron unas gotas de hemolinfa en un tubo con solución salina al 2.5 %, el cual sirvió como medio de transporte. Con un isopo estéril se tomó una muestra del hepatopáncreas de cada uno de los organismos colectados y se colocaron en tubos con el mismo medio de transporte. (Conroy *et al*, 1990; Lightner, 1996). Se realizaron tres pruebas generales: tinción Gram, motilidad y prueba de la oxidasa.

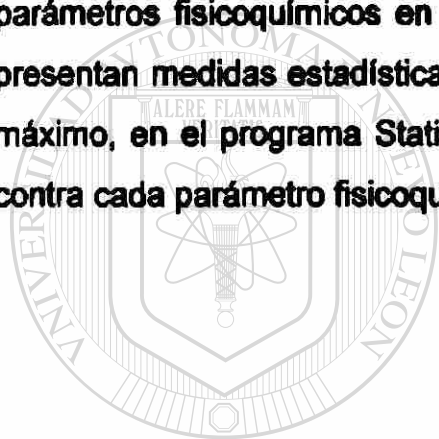
b).- Procesamiento en el laboratorio y cuantificación de bacterias .- Las muestras fueron sembradas en medio de enriquecimiento (caldo nutritivo suplementado con 2.5 % de NaCl), se cultivó en tiosulfato, citrato, sales biliares y sucrosa (TCBS) para esto se utilizó una asa calibrada previamente esterilizada al mechero y enfriada. Se inoculó en una caja de petri que se colocó en forma invertida y se incubó por un tiempo de 24 horas (h) a temperatura de 28-30 °C. A las 12 h de incubación se recomienda monitorear la luminiscencia. Después de transcurrido el período de incubación, se realizó la lectura de las colonias tanto verdes como amarillas y se les multiplicó por el factor 200 (diámetro del asa $-4 \text{ mm} \rightarrow 10 \mu\text{l}$). Los resultados se reportaron como "Unidades Formadoras de Colonias" por mililitro (UFC/ml).

c).- Identificación de bacterias *Vibrio* sp.- Se realizó la purificación de bacterias en Agar Soya Tripticas (TSA) con el fin de prevenir la posibilidad de que las colonias no estuvieran bien aisladas o cuando el cultivo superó las 24 h para evitar contaminación y errores en la identificación. Se seleccionaron las colonias para la resiembra que se realizó en TSA ajustado a la salinidad del medio y se incubó a 28-30 °C por 18-20 h. Las colonias que crecieron en TSA nos sirvieron para realizar antibiogramas, así como para la identificación bacteriana. El

método de identificación fue el API 20 NE. El cual es muy confiable y nos permite identificar la especie de bacteria.

6.- Parámetros fisicoquímicos del agua.

Los registros de los parámetros fisicoquímicos del agua se tomaron de las bitácoras de la granja. De estos se obtuvo el coeficiente de correlación de Spearman, realizando tablas cruzadas en el programa SPSS 10.0 para window, entre los parámetros fisicoquímicos con las siguientes enfermedades: WSSV, TSV, IHNV, *Zootamnium*, *Epistilis*, *Acineta* y *Nematopsis* sp. Se graficó a los parámetros fisicoquímicos en los meses de agosto, septiembre y octubre. Se presentan medidas estadísticas como la media, desviación estándar, mínimo y máximo, en el programa Statisticas 8.0. Se graficó a todas las enfermedades contra cada parámetro fisicoquímico del agua, en el programa Statisticas 6.0.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



IX.- RESULTADOS

1.- Histopatología del virus de la mancha blanca (WSSV).

a).- Signos clínicos macroscópicos

Los organismos que se analizaron y se encontraron infectados con WSSV presentaron signos clínicos macroscópicos muy marcados, como es la expansión de cromatóforos rojos en el cuerpo, coloración rosada a rojiza, flacidéz generalizada, pérdida de apéndices; antenas, pleópodos y pereiópodos. No se observaron manchas blancas en el caparazón como se describe en algunas bibliografías asiáticas (Foto No. 1).

b).- Signos clínicos microscópicos

En el análisis histopatológico se encontraron cuerpos de inclusión Coudry tipo A (Foto No. 2) fueron eosinofílicos o basofílicos intracelulares, en etapas tempranas se observa hipertrofia nuclear en las células dañadas que a menudo se observaron eosinofílicos (Foto No. 3) y en etapas tardías basofílicos respectivamente, presentaron cromatina marginada muy notable, atrofia nuclear y picnosis.

c).- Sitios de infección

WSSV se encontró infectando los tejidos branquiales del camarón y epidemis subcuticular. Algunos organismos adquirieron infecciones virales por WSSV y TSV concurrentemente (Fotos No. 4 y 12), los mismos sitios de infección fueron observados cuando se encontraron juntos los dos virus.

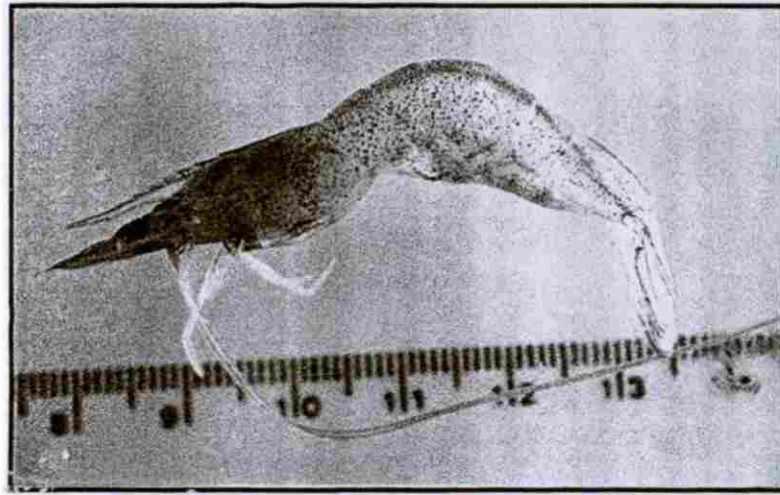


Foto No. 1.- Expansión de cromatóforos rojos en el cuerpo. Camarón infectado con WSSV. Se observa coloración rosada a rojiza del cuerpo, flacidez, pérdida de pleópodos, pereiópodos y antenas.

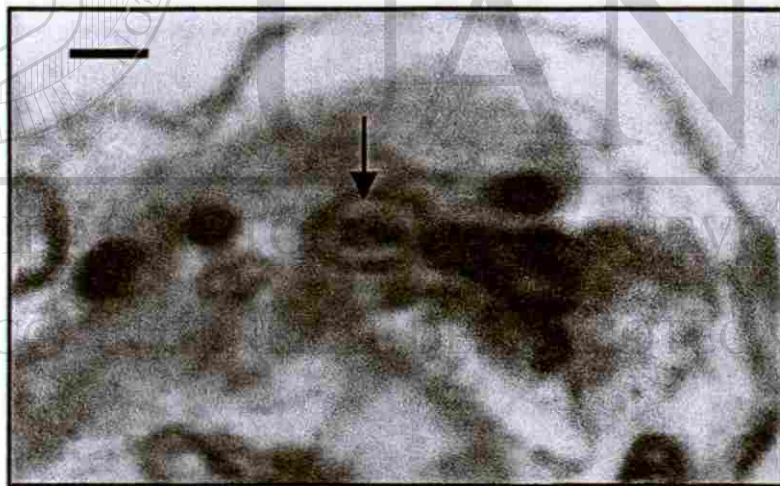


Foto No. 2.- Cuerpos de inclusión Coudry tipo A. Se observa una célula con la cromatina marginada y atrofia nuclear. 40X H & E. Escala= 10 μ m.



Foto No. 3.- Células hipertrofiadas. Corte histológico de tejido branquial de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 25X. Escala = 20 μ m.



Foto No. 4.- WSSV (flechas cortas) y TSV (flechas largas). Corte histológico de branquias de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 25X. Escala= 20 μ m.

2.- Ultraestructura

2.a).- Descripción patológica

En el estudio ultraestructural se observó a las células infectadas con partículas virales de WSSV las cuales son no ocluidas, en forma alargada y están dentro del núcleo. En etapas tempranas la cromatina se encontró en aglomeraciones distribuidas por todo el núcleo y los cuerpos de inclusión están situados en el centro, también se observan túbulos vacíos. (Foto No. 5), en cambio en etapas más avanzadas los viriones tienen una tendencia a establecerse en las orillas del núcleo y la cromatina se encuentra completamente en el margen (Foto No. 6).

2.b).- Estructuras; forma y tamaño.

Con respecto a las formas y medidas de los viriones, son de forma alargada con un final apical o cola, poseen una pared externa, envoltura de la cápside y nucleocápside, las medidas del virión completo son desde 108.33 nm de largo por 58.33 de diámetro los más pequeños, hasta viriones de 266.66 nm de largo por 75 de diámetro, con un promedio de 172.61 nm de largo por 70.23 de diámetro. (Foto No. 7). Se observan también cortes transversales redondeados que tienen medidas promedio de 70.23 nm de diámetro.

La pared externa a simple vista se observa gruesa, tiene medidas desde 5 nm hasta 8.33, con un promedio de 6.90 nm de grosor. La envoltura tiene una apariencia de pared trilaminar que a menudo en los finales se extiende formando una cola y las medidas son desde 11.33 nm hasta 13.33 de grosor, con un promedio de 12.85. La nucleocápside es de forma cilíndrica, se observa electrodensa, está rodeada por la envoltura y se encontraron medidas desde 75 nm de largo por 41.66 de diámetro, hasta de 166 nm de largo por 61.66 de diámetro. (Foto No. 8).

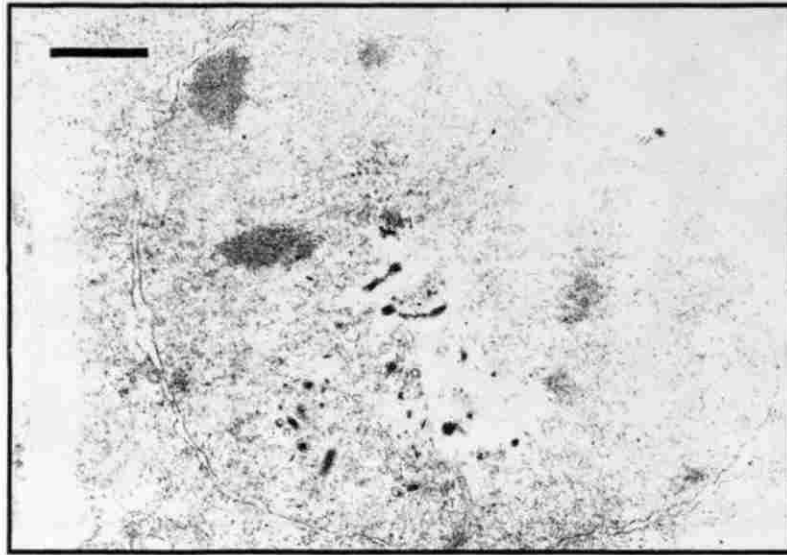


Foto No. 5.- Fase inicial de WSSV. Corte de una célula infectada donde se observa la cromatina en aglomeraciones que están distribuidas por todo el núcleo y los viriones en forma de varilla se encuentran centrados, también se observan túbulos vacíos longitudinales y transversales. Contrastado con citrato de uranilo y acetato de plomo. Escala= 500 nm.

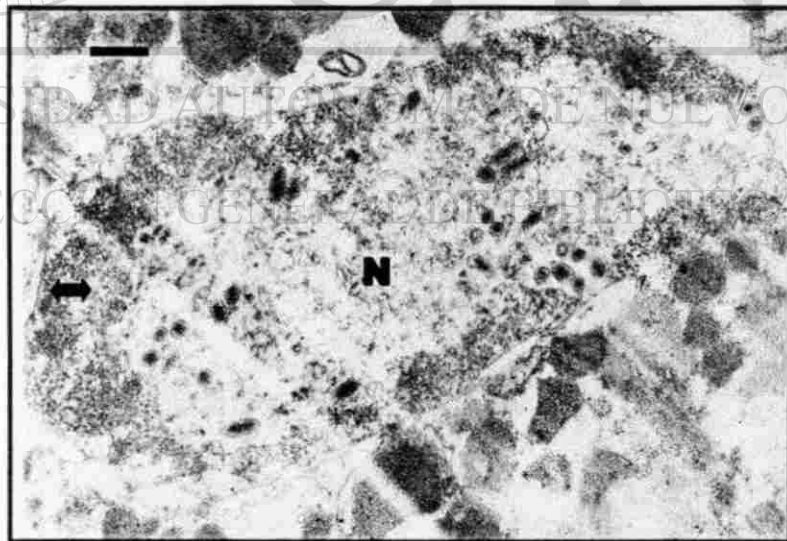


Foto No. 6. – Cromatina marginada (flecha doble). Etapa avanzada de la infección por WSSV. Se observan los viriones con tendencia a situarse en la orilla del núcleo (N). Contrastado con acetato de uranilo y citrato de plomo. 7000x3X. Escala= 333.33 nm.

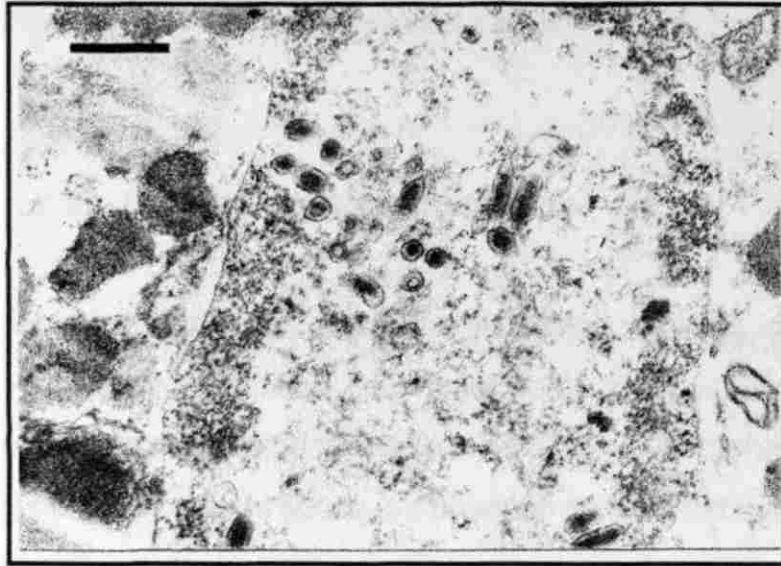


Foto No. 7.- Morfología de WSSV. Viriones en forma alargada con medidas de hasta 266.66 μm de largo por 75 de diámetro y cortes transversales redondeados con medidas promedio de 70.23 μm de diámetro. Contrastado con acetato de uranilo y citrato de plomo. 20000X3X. Escala = 200 nm.

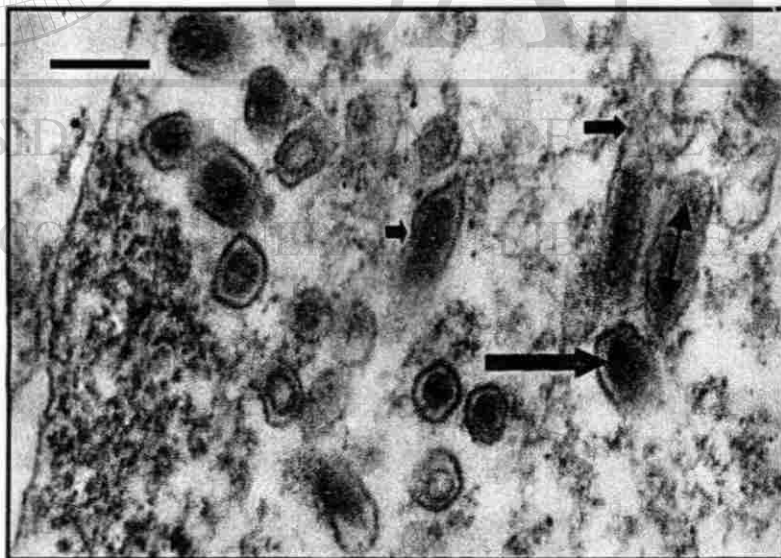


Foto No. 8.- Estructuras virales. Corte de un núcleo que muestra las partículas virales en las cuales se observa la envoltura con apariencia de pared trilaminar (flecha grande), la membrana externa (flecha chica), la extensión apical (flecha cortada) y la nucleocápside cilíndrica (flecha doble). Acetato de uranilo y citrato de plomo. 30000X3X. Escala = 112.5 nm.

2.- Histopatología del síndrome de Taura (STV).

2.a).- Signos clínicos macroscópicos.

Los camarones infectados con TSV presentaron signos clínicos como la coloración rosada o rojiza, la expansión de cromatóforos rojos en el cuerpo, cola roja, pérdida de pleópodos, pereiópodos y antenas, la flacidez generalizada fué característica así como la cutícula suave, se observaron lesiones cuticulares melanizadas en organismos de un peso de 6 g en promedio o 60 días de sembrados. (Foto No. 9).

2.b).- Signos clínicos microscópicos.

En histología fueron abundantes los cuerpos de inclusión basofílicos esféricos citoplasmáticos. (Foto No. 10). Se encontraron áreas multifocales de necrosis, cariorexis y picnosis nuclear en el epitelio subcuticular y en las branquias. No se encontró infiltración hemocítica. (Foto No. 11).

2.c).- Sitios de infección.

Se encontraron lesiones agudas en el epitelio subcuticular y en lamelas branquiales mostrando los signos típicos de TSV ya descritos. También se encontró a TSV asociado con WSSV en un mismo organismo y en los mismos sitios de infección. (Foto No. 12).

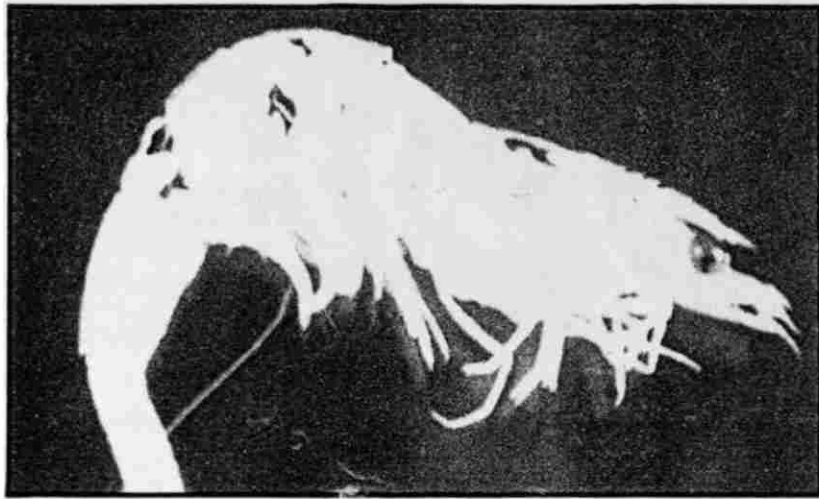


Foto No. 9.- Fase crónica de TSV. Algunos de los síntomas característicos de la fase crónica de esta enfermedad son la coloración rosada, cola roja, manchas color marrón en la cutícula, expansión de cromatóforos, flacidez generalizada.

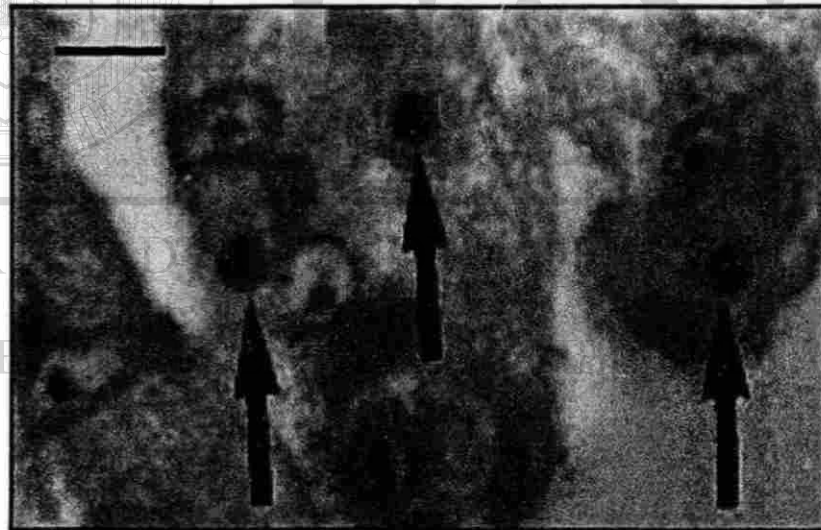


Foto No. 10 .- Cuerpos de inclusión basofílicos. Lesiones multifocales en tejido branquial de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 60X. Escala= 5 μ m.

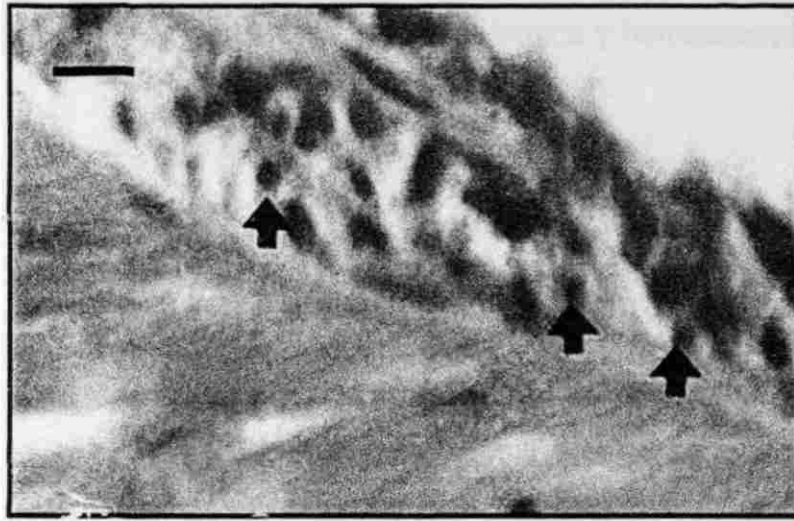


Foto. No.11.- Cariorexis y picnosis nuclear. Se observan lesiones multifocales en el epitelio subcuticular causadas por una fuerte infección producida por el TSV. H & E. 40X. Escala= 10 μ m.



Foto No. 12.- TSV (flechas cortas) y WSSV (flecha largas). Concurrentemente se presentaron estos dos virus infectando a un mismo organismo. H & E. 25X. Escala= 20 μ m.

3.- Histopatología del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV).

a).- Signos clínicos macroscópicos.

Los camarones presentaron deformidad del rostro, del cuerpo y en ocasiones hasta de la cola. Estos signos clínicos son característicos en organismos infectados con IHHNV. También se observó una coloración café grisácea del cuerpo y especialmente del hepatopáncreas, así como la pérdida de los apéndices. (Foto No. 13).

b).- Signos clínicos microscópicos.

En el análisis histopatológico se encontraron cuerpos de inclusión Coudry tipo A eosinofílicos intracelulares, con la cromatina marginal muy marcada e hipertrofia nuclear. Se observa una tendencia del núcleo a extenderse hacia las orillas de la célula. (Foto No. 14).

c).- Sitios de infección.

IHHNV se encontró en los tejidos branquiales del camarón y en el epitelio subcuticular.

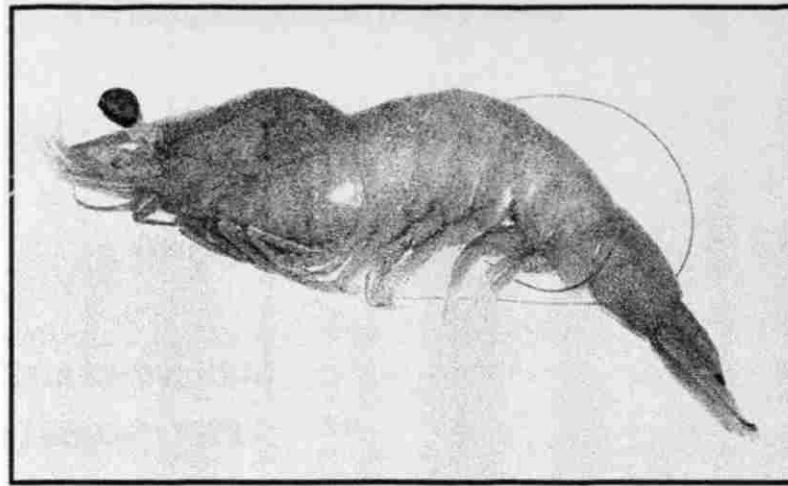


Foto No. 13.- Deformidad del rostro y del cuerpo. Signos macroscópicos típicos en los organismos infectados con IHNV.

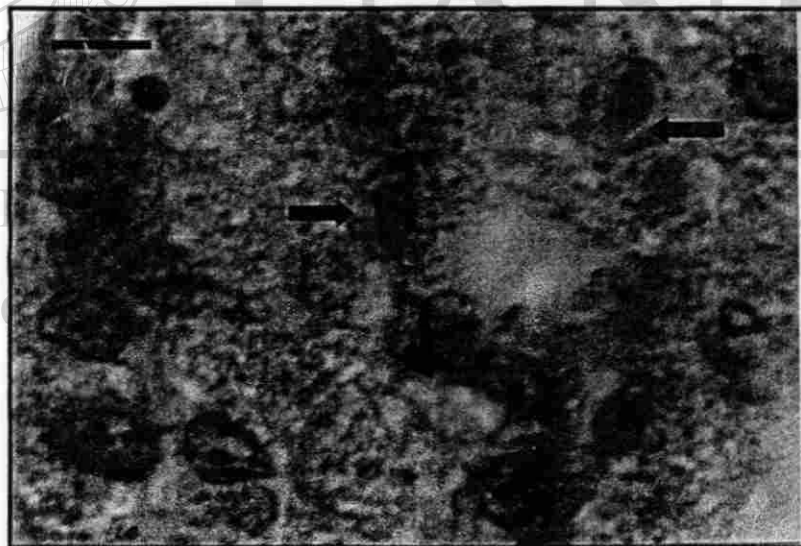


Foto No. 14.- Cuerpos de inclusión Coudry tipo A, basofílicos con la cromatina marginada (flecha larga), y tendencia del núcleo a pegarse con las orillas de la membrana celular (flecha corta). Corte histológico de branquias de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Infección causada por IHNV. H & E. 60X. Escala= 5 μ m.

4.- Histopatología de protozoarios.

a).- *Nematopsis* sp.

a.1).- Descripción taxonómica

PHYLUM: Apicomplexa Levine, 1970

CLASE: Esporozoa Leuckart, 1879

SUBCLASE: Gregarina Dufor, 1828

ORDEN: Eugregarinida Léger, 1900

FAMILIA: Porosporidae Labbé, 1899

GÉNERO: *Nematopsis* Schneider, 1892

ESPECIE: *Nematopsis* sp Sprague, 1954

a.2).- Signos clínicos macroscópicos.

Los organismos parasitados por gregarinas presentaron disminución de apetito, típicamente el estómago vacío, inflamación de la mucosa intestinal y lisis celular.

a.3).- Descripción morfológica y sitios de infección.

Las gregarinas del género *Nematopsis* sp. se localizaron en grandes cantidades en los dobleces del epitelio en el intestino posterior y en el estómago (Foto No. 16) , libres o adheridas al lumen del instestino, son de forma alargada y poseen un núcleo que se encuentra situado en la parte anterior. Se encontraron esporozoítos que son la fase infectiva del parásito así como trofozoítos que constan de: epimerito; de forma globular, es la parte anterior u órgano de fijación, protomerito; es de forma cilíndrica se encuentra pegado al epimerito y ahí se localiza el núcleo y deutomerito elongado cilíndrico, con extremo posterior redondeado o cola. (Foto No. 16).

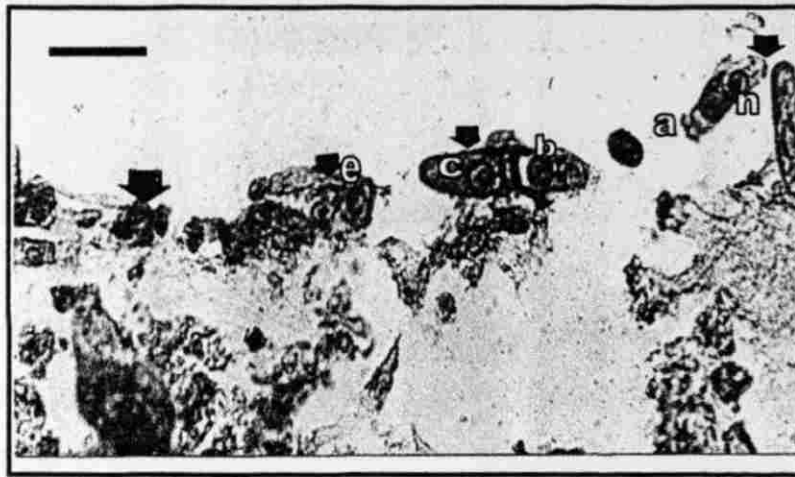


Foto No. 16.- Trofozoitos de gregarinas del género *Nematopsis* sp. Constan de epimerito (a), protomerito (b) y deutomerito (c), un núcleo (n). También se observan esporozoítos (e) que es la etapa infecciosa. En intestino posterior de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 40X. Escala= 14 μ m.

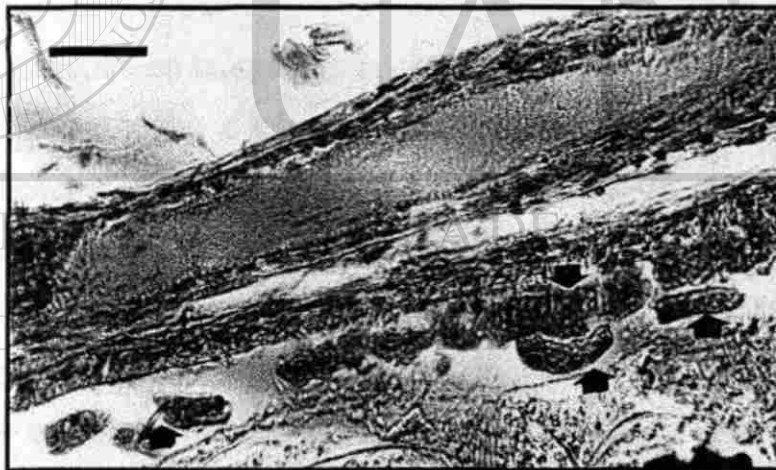


Foto No. 17.- Gregarinas del género *Nematopsis* sp. en estómago de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. 40 X. H & E. Escala = 14 μ m.

b).- *Zootamnium* sp.

b.1).- Descripción taxonómica.

PHYLUM: Ciliophora Doflein, 1901

CLASE: Oligohymenophorea Puytorac, 1974

SUBCLASE: Peritrichia Stein, 1859

ORDEN: Peritrichida Stein, 1859

SUBORDEN: Sessilina Kahl, 1933

FAMILIA: Vorticellidae Ehrenberg, 1838

GENERO: *Zootamnium* sp. Lightner, 1977

b.2).- Descripción morfológica y sitios de infección.

***Zootamnium* sp. se encontró en colonias, son organismos cilíndricos o de forma ovoide adheridos a las branquias o a la subcutícula del camarón; son incoloros amarillentos o grisáceos, forma de campana, en la región apical sobresale un conjunto de cilios cortos que rodea la zona adoral, macronúcleo en forma de herradura que se localiza generalmente bajo la línea ecuatorial del cuerpo y un micronúcleo esférico localizado frente al margen posterior cónico, el citostoma está localizado en la parte anterior, en el extremo posterior emergen los mionemas contráctiles continuos. (Foto No. 18).**

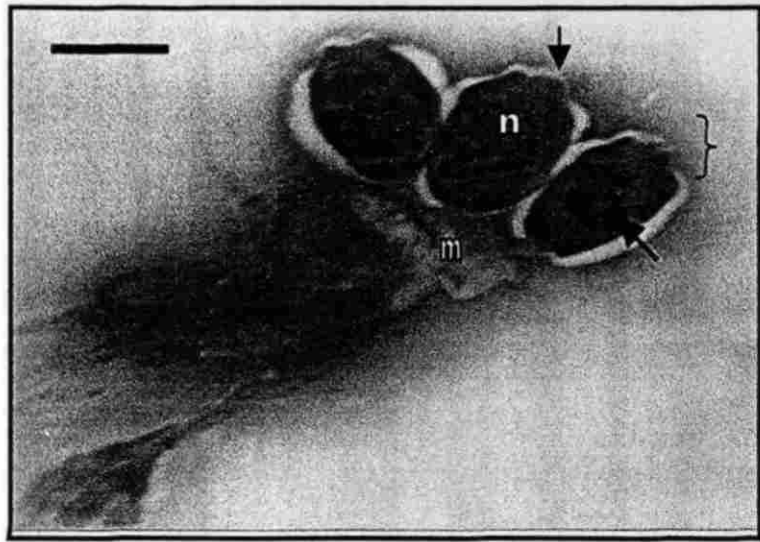
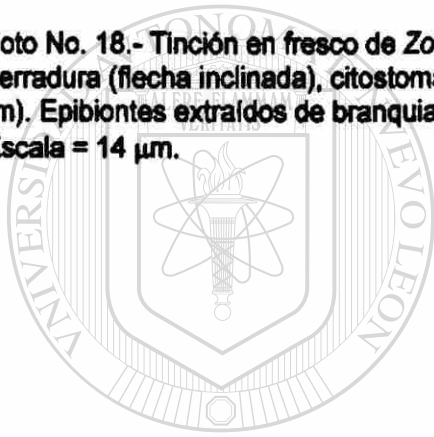


Foto No. 18.- Tinción en fresco de *Zootamnium* sp. Poseen un macronúcleo en forma de herradura (flecha inclinada), citostoma (flecha corta), zona adoral (llave), mionemas contínuos (m). Epibiontes extraídos de branquias de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 40X. Escala = 14 μ m.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

c).- *Epistylis* sp.

c.1).- Descripción taxonómica.

PHYLUM: Ciliophora Doflein, 1901

CLASE: Ologohymenophorea Puytorac, 1974

SUBCLASE: Peritrichia Stein, 1859

ORDEN: Peritrichida Stein, 1859

SUBORDEN: Sessilina Kahl, 1933

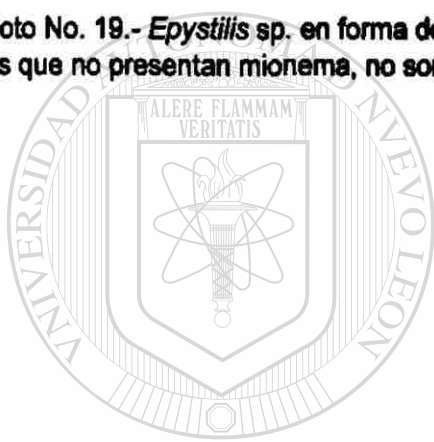
GENERO: *Epistylis* sp.

c.2).- Descripción morfológica y sitios de infección.

Los protozoarios ciliados *Epistylis* sp. son organismos en forma de campana invertida, se encontraron adheridos a las branquias y a la subcutícula del camarón, son incoloros amarillento grisáceos; generalmente con tallo dicotómico sin mionema, no contráctil, característica distintiva del género, en la parte anterior presentan una corona con cilios, macronúcleo en forma de herradura y un micronúcleo. forman grandes colonias. (Foto No. 19).



Foto No. 19.- *Epystilis* sp. en forma de campana invertida. La característica principal del género es que no presentan mionema, no son contráctiles. H & E. 40X. Escala= 14 μ m.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

d).- *Acineta* sp.

d.1).- Descripción taxonómica.

PHYLUM: Ciliophora Doflein, 1901

CLASE: Kinetofragminophorea Puytora, 1974

SUBCLASE: Suctoria Claparede y Lachmann, 1858

ORDEN: Suctorida Claparede y Lachmann, 1858

FAMILIA: Acinetidae Sstein, 1859

GENERO: *Acineta* Ehrenberg, 1833

ESPECIE: *Acineta* sp

d.2).- Descripción morfológica y sitios de infección.

Acineta sp. Se localizó en branquias y en la subcutícula. Presenta forma de campana invertida , lórica aplanada, poseen tallo que proviene del extremo posterior del cuerpo, los tentáculos se encuentran en dos racimos, el cuerpo llenando total o parcialmente la lórica , citoplasma granular homogéneo, macronúcleo ovoide elongado localizado en el tercio medio del axis longitudinal del cuerpo, se encuentran individuales y con un mionema. Foto No. 21.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

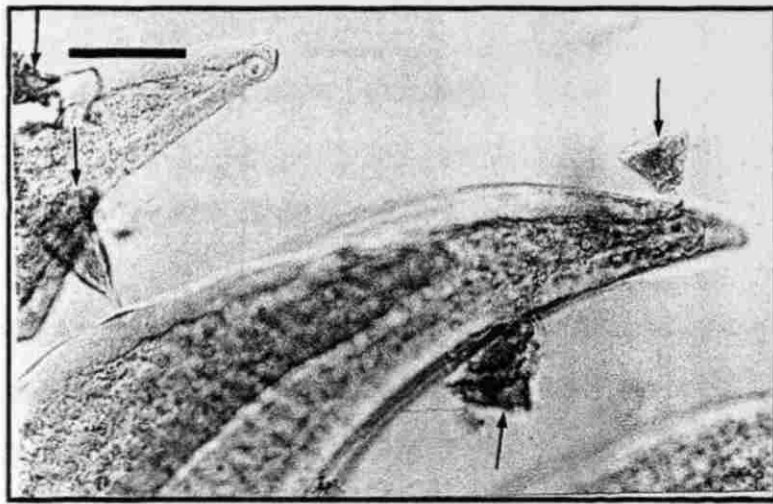
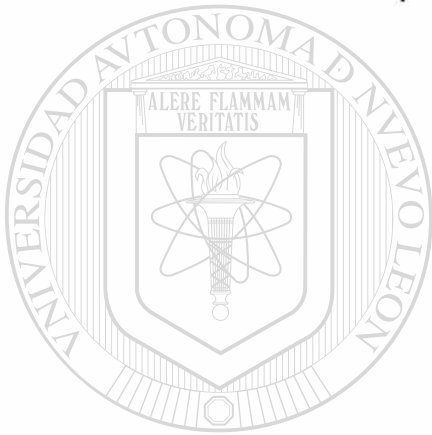


Foto No. 20.- *Acineta* sp. en branquias. Camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. H & E. 40X. Tinción en fresco. Escala= 14 μ m.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

5.- Bacterias *Vibrio* spp.

a).- Signos clínicos macroscópicos.

Las bacterias identificadas fueron *V.alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* y otras especies de *Vibrio* que se encontraron en pequeñas cantidades.

Los signos clínicos que fueron encontrados a menudo en el cultivo fueron: Altas mortalidades en postlarvas y juveniles, camarones moribundos con nado errático en la superficie, presencia de gaviotas en el estanque, urópodos y telson con cromatóforos distendidos (cola roja) y la presencia de vesículas, antenas; rugosas, descoloridas, cortadas, intestinos semillenos.

b).- Signos clínicos microscópicos.

Algunos organismos presentaron necrosis multifocal a nivel cuticular, hemolinfa turbia.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

c).- Sitios de infección.

Se encontraron bacterias *Vibrio* sp. en las lesiones melanizadas cuticulares, en el hepatopáncreas, en la hemolinfa y en la superficie general del cuerpo.

Tabla No. 1.- Bacterias *Vibrio* spp.

Estanque	V. Tot./UFC.	V. vulnificus	V. alginolytic	V. parahaem	V. Fluvialis
3B4	200	X			
3B5	33000		X	X	
4C	30000			X	X
1B	2000			X	
1A	400	X			
2S2	2000	X	X		
4C2	15000		X		
4A2	6800		X		

Nota: Los resultados promedio de cada estanque se reportan en UFC= Unidades Formadoras de Colonias.

V. vulnificus= *Vibrio vulnificus*

V. alginolytic= *Vibrio alginolyticus*

V. parahaem= *Vibrio parahaemolyticus*

V. fluvialis= *Vibrio fluvialis*

6.- Relación de los parámetros fisicoquímicos del agua con las enfermedades de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Tabla No. 2.- Registro de los parámetros fisicoquímicos del agua en los meses de agosto= fecha 1, septiembre= fecha 2 y octubre= fecha 3.

Estanque	fecha	Temperatura	Oxígeno	Salinidad	pH	Amonia	Nitritos	Nitratos	Alcalinidad
3B4	1	30.3	5.77	28	7.3	0.01	0.012	0.015	194
4C	1	28.6	4.64	26	7.3	0.01	0.012	0.017	156
4Cres	1	30.9	8	19	7	0.06	0.017	0.07	196
1B	1	30.1	3.42	27	7.2	0.013	0.013	0.06	160
3B5	1	29.5	3.9	26	7.8	0.04	0.12	0.019	158
4F1	1	29.9	3.1	25	7.3	0.001	0.011	0.11	122
1A	1	28.7	4.18	39	7.2	0.006	0.013	0.11	154
2S2	1	32.2	8	25	7.3	0.01	0.012	0.015	156
3B4	2	27	5	27	7.2	0.012	0.013	0.016	152
4C	2	24	4.5	25	7	0.01	0.012	0.018	141
4Cres	2	26	7.5	19	7.2	0.05	0.015	0.017	150
1B	2	25.5	3.3	26	7	0.013	0.012	0.05	150
3B5	2	25	3.8	25	7.5	0.03	0.12	0.01	170
4F1	2	24	3	24	7.3	0.001	0.011	0.11	142
1A	2	25	4.7	38	7	0.005	0.011	0.11	146
2S2	2	27	7.2	35	7.5	0.25	0.04	0.01	162
3B4	3	19	5.77	26	8.15	0.1	0.041	0.06	138
4C	3	17	7.35	26	7.7	0.05	0.041	0.06	104
4Cres	3	11	7	26	8	0.05	0.01	0.08	134
1B	3	12	7.35	35	8	0.01	0.009	0.05	142
3B5	3	20	3.95	26	8.25	0.11	0.012	0.1	106
4F1	3	20	7.8	35	7.5	0.02	0.03	0.01	134
1A	3	18	8	27	8.3	0.1	0.03	0.01	134
2S2	3	21	7	29	7.4	0.05	0.01	0.05	138

Nota: Se registraron los datos promedio de 8 estanques, en tres fechas diferentes.

Tabla No. 3.- Registro de las enfermedades de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

0= ausencia 1= presencia

Estan	Fecha	WSSV	TSV	IHHNV	Zoot	Epys	Acine	Nemat
3B4	1	0	0	0	0	0	0	1
4C	1	1	1	0	1	1	0	1
1B	1	1	1	0	1	0	0	1
3B5	1	0	0	0	1	0	0	0
4F1	1	1	1	1	1	0	1	0
1A	1	0	0	0	1	0	1	0
2S2	1	0	1	1	0	0	0	0
4Cres	1	1	0	0	0	0	0	0
3B4	2	0	0	0	0	0	0	0
4C	2	1	0	0	0	0	1	0
1B	2	1	0	0	1	1	0	1
3B5	2	1	1	1	1	0	0	0
4F1	2	1	1	0	0	0	0	0
1A	2	0	0	0	0	0	0	0
2S2	2	1	1	0	0	0	0	0
4Cres	2	1	0	0	1	0	0	0
3B4	3	1	1	0	1	0	0	0
4C	3	1	1	0	0	0	0	1
1B	3	1	1	1	1	0	0	0
3B5	3	1	1	1	1	0	0	0
4F1	3	1	1	0	1	1	0	1
1A	3	1	0	0	1	0	0	0
2S2	3	1	1	0	0	1	0	1
4Cres	3	1	0	0	0	0	1	1

Abreviaciones.

WSSV= Virus de la mancha blanca.

TSV= Síndrome de Taura.

IHHNV=Virus de la necrosis hipodérmica
y hematopoyética infecciosa.

Zoot= *Zootamnium*.

Epys=*Epystilis*.

Acine= *Acineta*.

Nemat= *Nematopsis*.

Tabla No. 4.- Correlación de Spearman entre los parámetros fisicoquímicos del agua y la presencia de enfermedades en camarón blanco *L. Vannamei*.

Agosto

Enfermedad	Parámetros fisicoquímicos							
	A	B	C	D	E	F	G	H
WSSV	0.109	0.549	-0.609	0.234	0.559	0.338	-0.387	0.22
TSV	-0.546	0.165		-0.117	0.335	0.619	0.276	0.055
IHHNV	-0.504	-0.253	0.446	0.203		0.585	0.319	-0.253
Zoot.	-0.282	-0.453	-0.456		0.404	0.232	0.342	0.113
Epy.	-0.577	0.577		0.177	-0.085	-0.255	-0.25	-0.166
Acine.	-0.252	-0.082	-0.255	0.608	-0.129		0.319	-0.38
Nemat.	0.056	0.567	-0.114	-0.181	0.289	-0.058	-0.342	0.567

Septiembre

Enfermedad	Parámetros fisicoquímicos							
	A	B	C	D	E	F	G	H
WSSV		0.252	0.127	-0.196	0.504	0.319	-0.191	0.127
TSV	-0.172	-0.394	0.34	-0.234	-0.056	-0.057	0.171	0.227
IHHNV	0.084	-0.412	0.083	-0.428	0.082	-0.167	0.25	
Zoot.	0.574	0.394	0.057	0.058	0.732	0.342	-0.228	0.283
Epys.	0.252	0.577	-0.581		0.412	0.25	-0.083	
Acine.	0.504	-0.082	-0.166	-0.428	-0.247	-0.167	0.083	-0.581
Nemat	0.252	0.577	-0.581		0.412	0.25	-0.083	

Octubre

Enfermedad	Parámetros fisicoquímicos							
	A	B	C	D	E	F	G	H
WSSV								
TSV	-0.697	-0.191	-0.608	0.76	0.39	0.128	0.513	-0.195
IHHNV	-0.76		0.135		-0.52	-0.706	0.192	0.39
Zoot.	-0.17	-0.399		0.17	-0.116	-0.23	0.344	0.232
Epys.	0.19		-0.203	0.76	*0.715	0.064	0.064	-0.39
Acine.	0.581	-0.167	0.265	-0.581	-0.085	-0.336	-0.168	0.34
Nemat.	0.384		-0.234	0.11	0.506	0.167	0.056	-0.156

A= Temperatura, B= Oxígeno, C= Salinidad, D= pH, E= Amonia, F= Nitritos
G= Nitratos, H= Alcalinidad.

WSSV= Virus de la mancha blanca, TSV=Síndrome de Taura,

IHHNV= Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa.

Zoot.= Zootamnium, Epys.= Epystilis, Acine.= Acineta, Nemat.= Nematopsis.

Tabla No. 5.- Estadísticas Descriptivas.

Agosto= fecha 1

Parámetros	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv.Stand.
temp.	8	28.6	32.2		
oxi.	8	3.1	8	5.126	1.949
sali.	8	19	39	26.88	5.59
pH	8	7	7.8	7.3	0.227
amo.	8	0	0.06	1.88E-02	2.03E-02
nitri.	8	0.011	0.12	2.63E-02	3.79E-02
nitra.	8	0.02	0.11	5.20E-02	4.17E-02
alca.	8	122	196	162	23.71

Septiembre= fecha 2

Parámetros	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv.Estan.
temp.	8	24	27	25.375	1.188
oxi.	8	3	7.5	4.875	1.675
sali.	8	19	38	27.38	6.16
pH	8	7	7.5	7.212	0.21
amo.	8	0	0.25	4.71E-02	8.34E-02
nitri.	8	0.011	0.12	2.93E-02	3.79E-02
nitra.	8	0.01	0.11	4.26E-02	4.35E-02
alca.	8	141	170	151.63	9.91

Octubre= Fecha 3

Parámetros	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv.Estan.
temp.	8	11	21	17.25	3.77
oxi.	8	4	8	6.778	1.326
sali.	8	26	35	28.75	3.99
pH	8	7.4	8.3	7.913	0.341
amo.	8	0.01	0.11	6.13E-02	3.80E-02
nitri.	8	0.009	0.041	2.29E-02	1.41E-02
nitra.	8	0.01	0.1	5.25E-02	3.11E-02
alca.	8	104	142	128.75	14.93

temp.= temperatura, oxi.= oxígeno, sali.= salinidad, pH= pH, amo.= amonía,
nitri.= nitritos, nitra.= nitratos, alca.= alcalinidad.

Desv. Estan.= Desviación estándar

Gráficas de los parámetros fisicoquímicos.

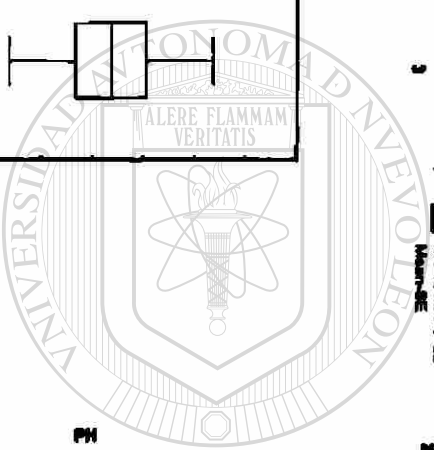
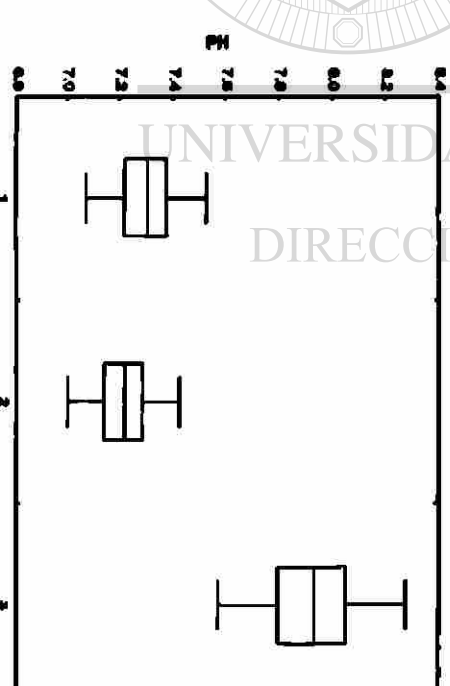
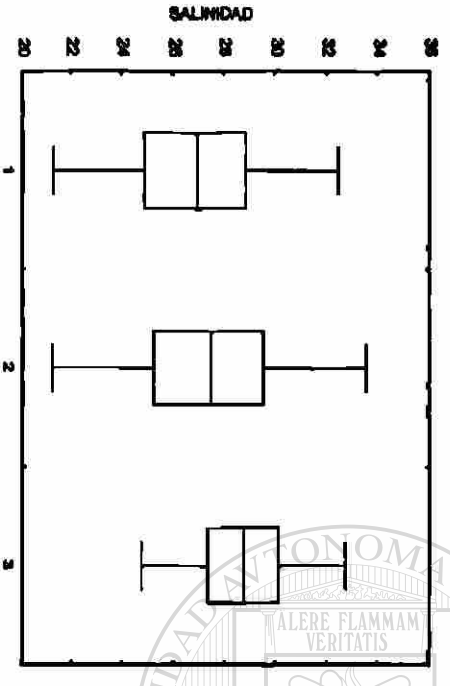
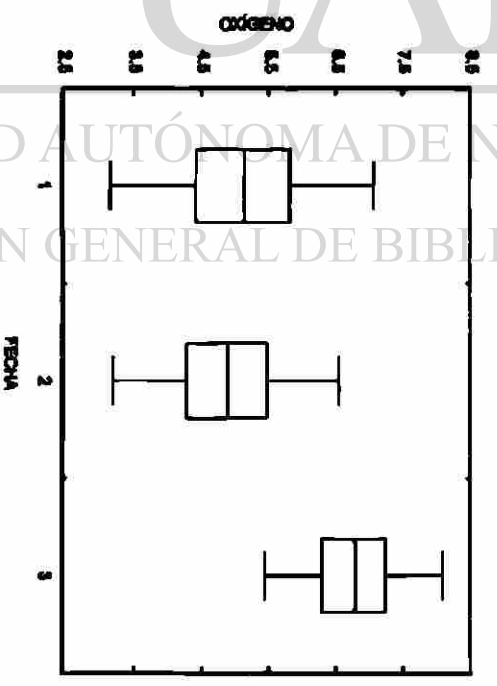
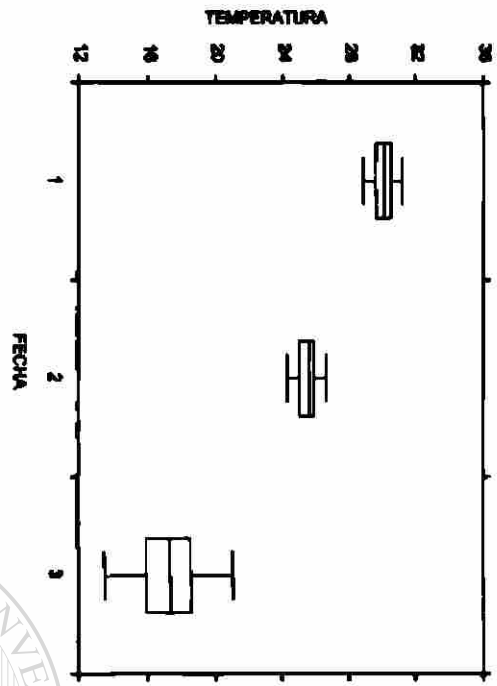
Se presentan 8 gráficas de los siguientes parámetros: Temperatura, Oxígeno, Salinidad, pH, Amonia, Nitritos, Nitratos y Alcalinidad.

La Temperatura osciló en un rango de 11 a 32 °C , se reportó muy baja en el mes de octubre en 5 estanques pero en general estuvo por arriba de los 20 °C. (Gráfica No. 1). El Oxígeno disuelto fue de 3 a 8 ppm., presentó un ligero aumento en el mes de octubre la media fue 6.778, como se muestra en la (Gráfica No. 2). La Salinidad osciló entre 19 y 39 ppm. (Gráfica No. 3), el pH no varió mucho registró un rango de 7.0 a 8.3, con un ligero aumento en el mes de octubre representado en la (Gráfica No. 4). La Amonia presentó una media de .875E-02, no registró cambios bruscos (Gráfica No. 5), Nitritos una media de 2.655E-02 sin cambios bruscos, Nitratos tampoco tuvo cambios bruscos su media fue de 5.200E-02 y la Alcalinidad fue bajando en la segunda y tercer fecha con una media de 196 respectivamente. (Gráfica No. 6).

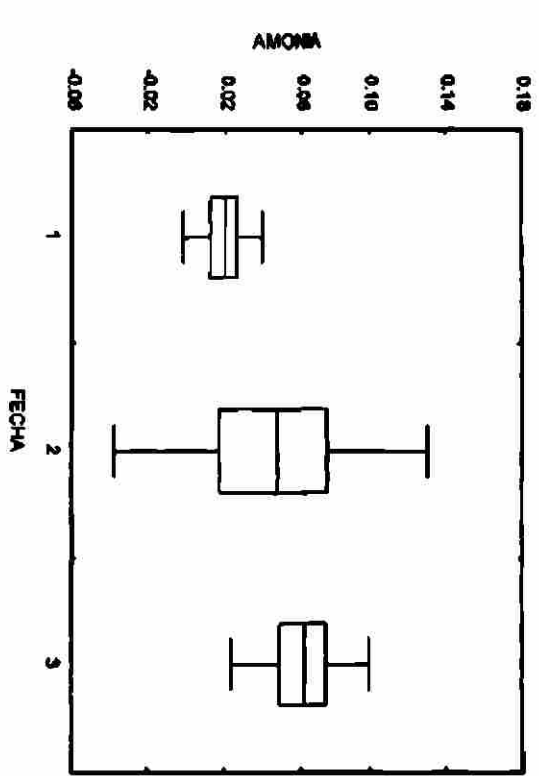
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Nota: Estos datos son un promedio general de todos los estanques muestreados.

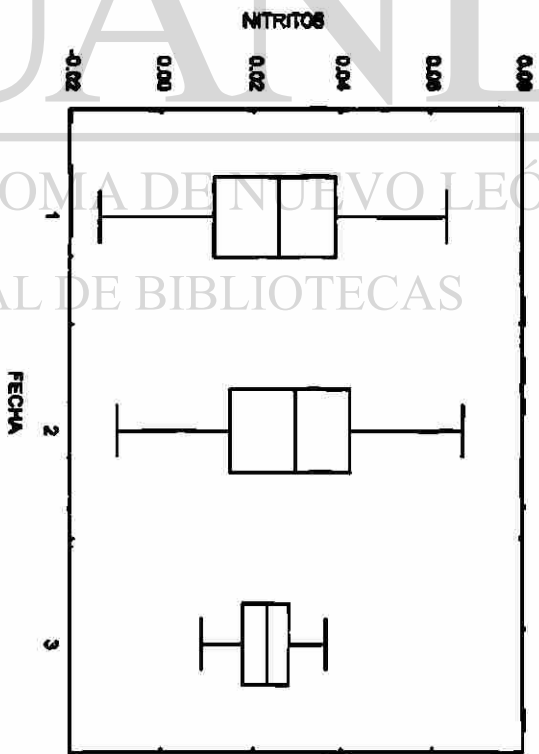
Gráficas de los parámetros fisicoquímicos del agua en los meses de agosto=fecha 1, septiembre=fecha 2 y octubre=fecha 3



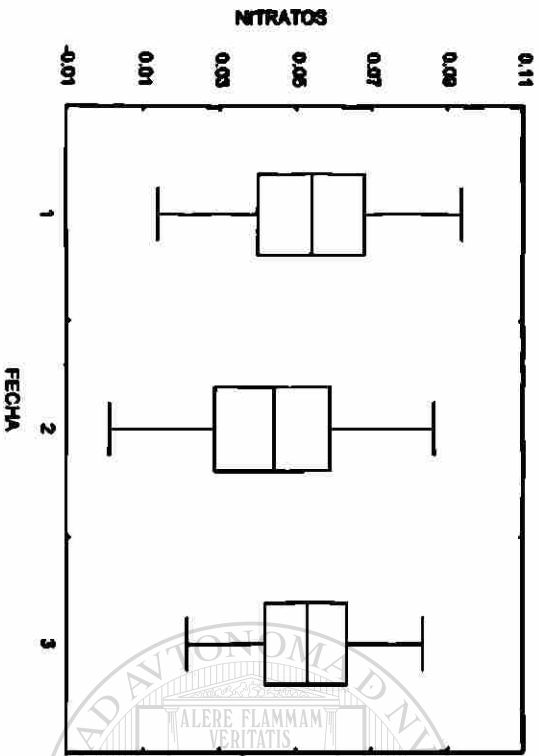
UANL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA



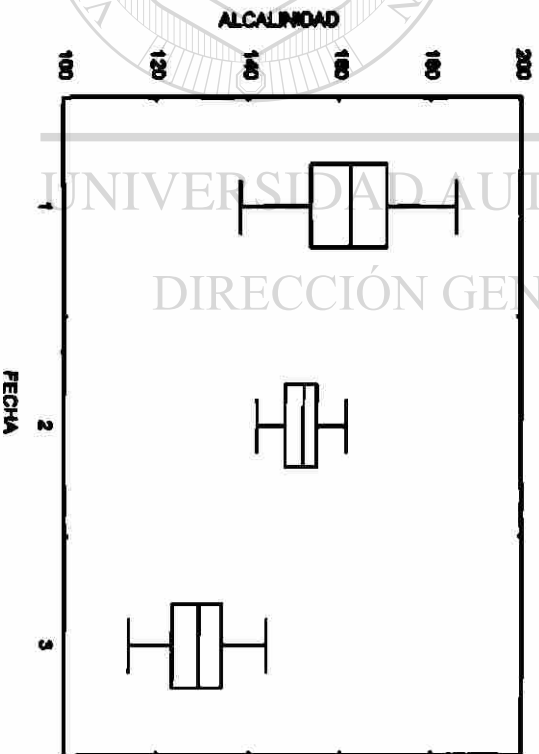
$\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SE$



$\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SE$



$\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SE$



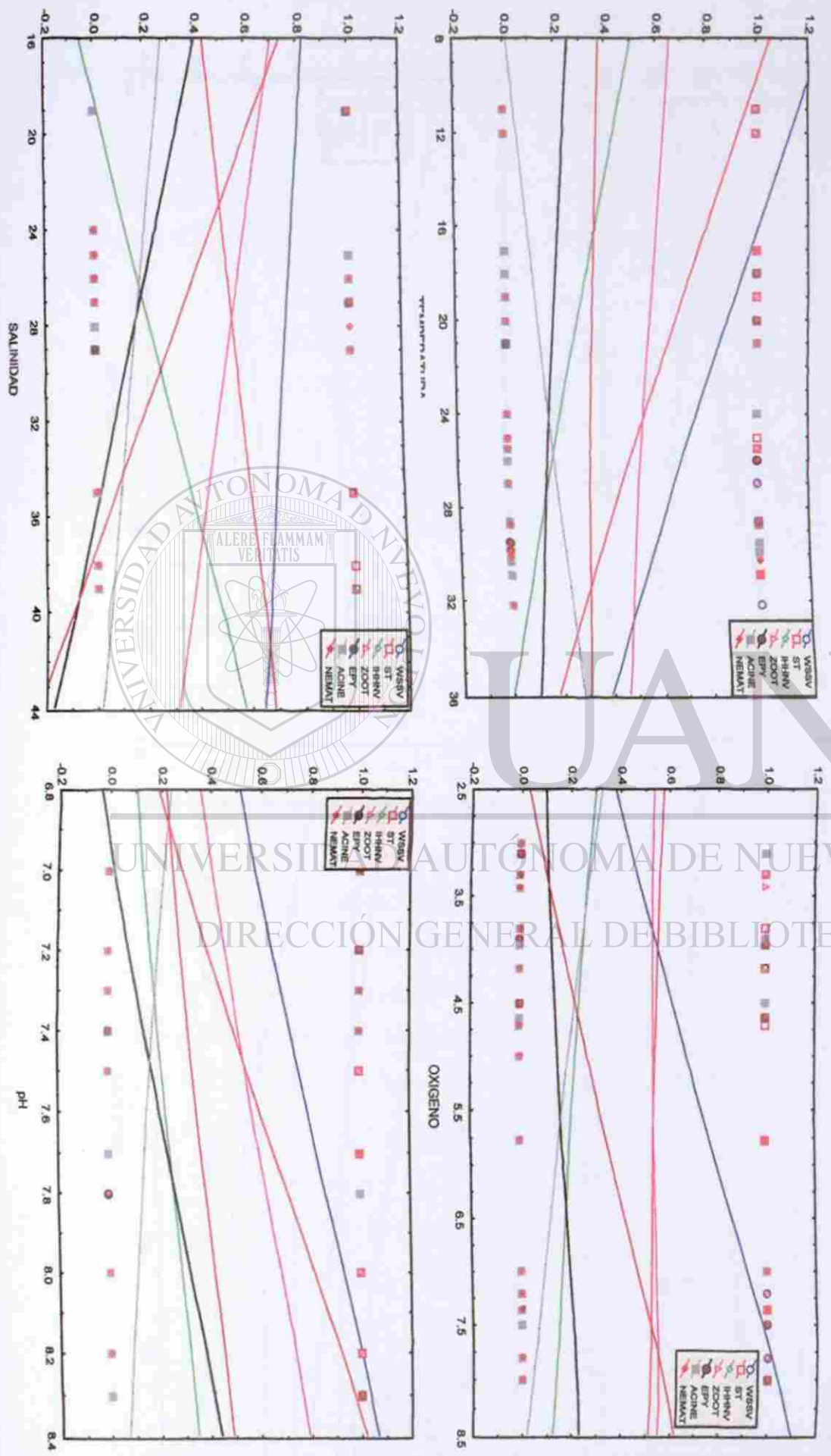
$\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SD$
 $\bar{x} \pm SE$

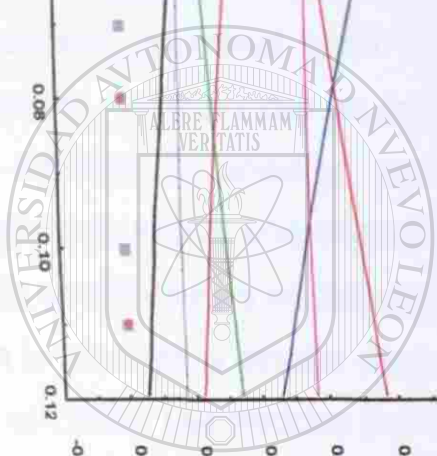
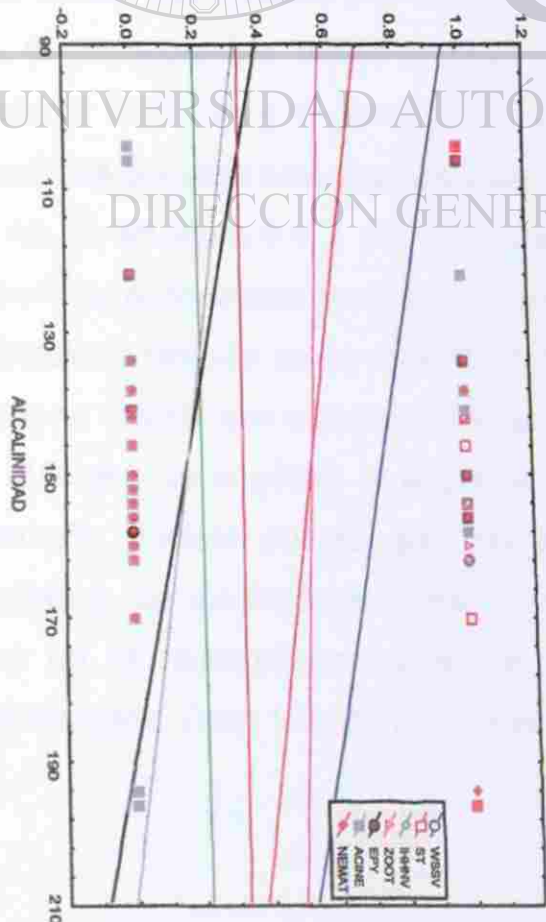
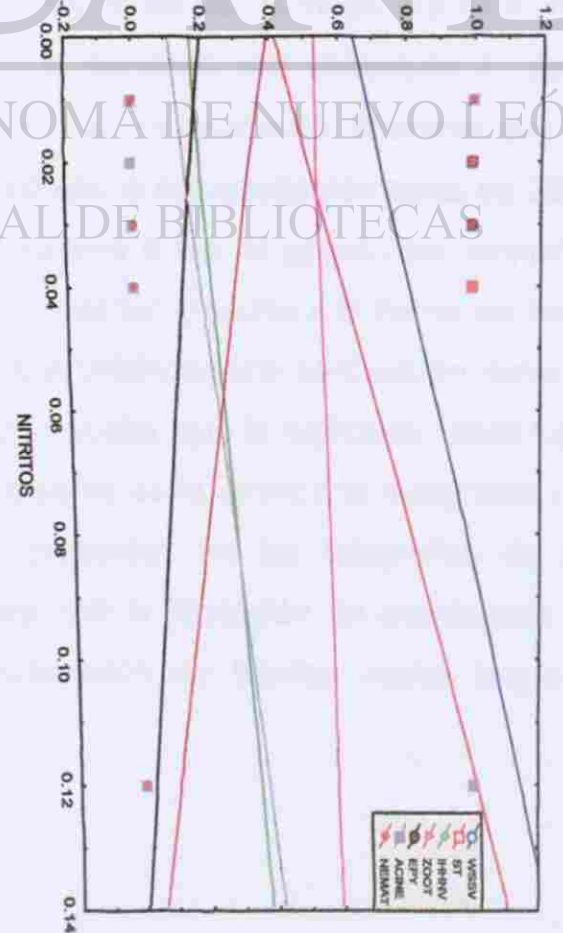
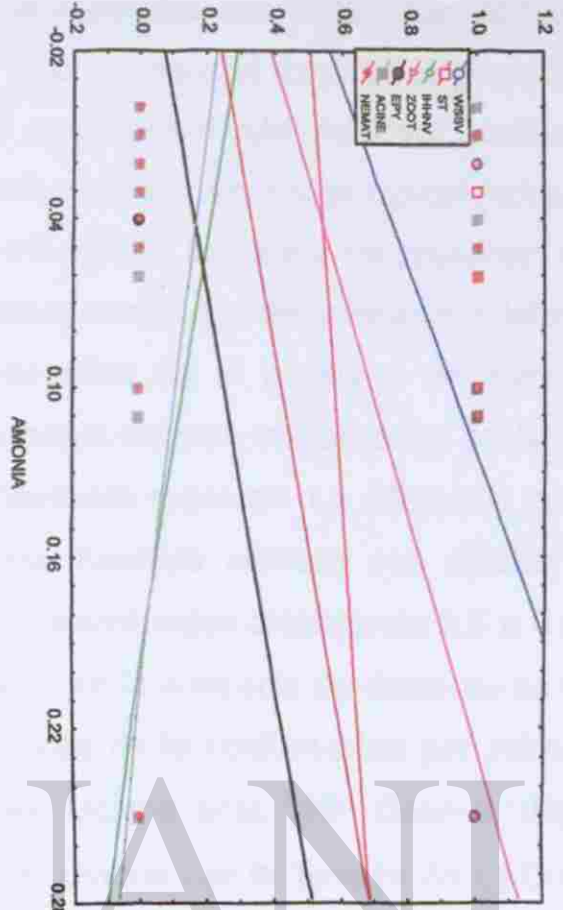
Gráficas de los parámetros fisicoquímicos con respecto a las enfermedades.

Las gráficas del No. 9 al 16 de los parámetros fisicoquímicos: temperatura, oxígeno, salinidad, pH, amonía, nitritos, nitratos y alcalinidad, con respecto a las enfermedades: *WSSV*, *TSV*, *IHHNV*, *Zootamnium*, *Epystilis*, *Acineta* y *Nematopsis*. muestran la tendencia de las enfermedades con el cambio de los parámetros fisicoquímicos. Son un promedio de las tres fechas antes mencionadas.

Las enfermedades: *WSSV*, *TSV*, *IHHNV*, *Nematopsis*, *Zootamnium* y *Epystilis* bajaron conforme aumentó la temperatura, solamente aumentó *Acineta*. (Gráfica No. 9). En la (Gráfica No. 10) se puede observar que con el aumento del oxígeno aumentaron: *WSSV*, *Zootamnium*, *Nematopsis* y *Epystilis* y bajaron *TSV*, *IHHNV* y *Acineta*. Con el aumento de la salinidad subieron *TSV* e *IHHNV*, por el contrario *WSSV*, *Zootamnium*, *Epystilis* y *Nematopsis* bajaron. (Gráfica No. 11). Cuando el pH aumentó subieron todas las enfermedades menos *Acineta* (Gráfica No. 12). Las enfermedades que aumentaron con la subida del amonía fueron: *WSSV*, *Zootamnium*, *Epystilis*, *Nematopsis* y *TSV*, solamente bajaron *IHHNV* y *Acineta*. (Gráfica No. 13). Cuando se registró aumento de nitritos también aumentaron: *WSSV*, *TSV*, *IHHNV* y *Acineta* por el contrario disminuyeron *Nematopsis* y *Epystilis*, mientras que *Zootamnium* se mantuvo constante. (Gráfica No. 14). Con el aumento de nitratos aumentaron *TSV*, *IHHNV* y *Zootamnium*, bajaron *WSSV*, *Nematopsis* y *Epystilis* mientras que *Acineta* permaneció constante como se muestra en la (Gráfica No. 15). En la (Gráfica No. 16) se observa que con el aumento de la alcalinidad bajaron *WSSV*, *TSV*, *Zootamnium*, *Epystilis*, *Acineta* y permanecieron constantes *IHHNV* y *Nematopsis*.

Gráficas de la relación de los parámetros fisicoquímicos y las enfermedades de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

X.- DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

El cuadro clínico observado en camarones infectados con WSSV fue idéntico al que se describe en la literatura asiática, todo el material examinado presentó la coloración rojiza o necrosis generalizada en la exocutícula, flacidéz, pérdida de apéndices; antenas, pleópodos y pereiópodos aunado a grandes mortalidades. En general las similitudes encontradas entre infecciones de Asia y las presentes son; la coloración rosa o rojiza del cuerpo en casos avanzados de la infección, letargia, pérdida del exoesqueleto, disminución repentina en el consumo de alimento, afecta a juveniles de todas las edades, las cepas inducen mortalidades del 80-100 % y son escasas las que ocasionan mortalidades menores. La diferencia con el hemisferio occidental sería que aquí las manchas blancas son difíciles de observar, mientras que en oriente son muy prominentes alcanzando 0.5 a 3 mm de diámetro. Sin embargo se ha enfatizado que la ausencia de éstas no es una regla para excluir una infección, requiriéndose de la confirmación por métodos más sensitivos para un diagnóstico definitivo. (Lightner *et al.* 1998; Galaviz 1999). En lo referente al estudio ultraestructural se coincide con la descripción de Durán *et al.* (1998). Las medidas promedio fueron muy cercanas ; el virión 172.61 x 70.23 nm, la nucleocápside 167.85 x 49.28 nm, la envoltura con estructura de pared trilaminar 12.85 nm y la pared externa 6.90 nm en promedio. Mientras que las reportadas por ellos son; el virión 250 x 100 nm, la nucleocápside cerca de 200 x 65 nm, la envoltura 6 a 7 nm y la pared externa 6 nm de grosor, las pequeñas diferencias encontradas en cuanto a tamaño podrían deberse a la forma del corte. Coincidimos también en su comentario de que WSSV es una partícula en forma de varilla no ocluída con una extensión apical envuelta, que la replicación tiene lugar en el núcleo de la célula y el primer indicativo es la cromatina marginada y la hipertrofia nuclear puesto que así se presentan en las fotografías de los resultados. La morfogénesis viral empieza con la formación de membranas de novo en el nucleoplasma y por la elaboración de túbulos vacíos largos y segmentados. Estos túbulos se rompen

en fragmentos para formar nucleocápsides vacías, las cuales son localizadas en la porción central del núcleo afectado y generalmente están envueltas pero con una extremidad abierta. Las nucleoproteínas las cuales tienen apariencia filamentosas, entran a la cápside a través de esta abertura final. Cuando el core está completamente formado, la envoltura se estrecha en la abertura final y forma la cola apical del virión maduro. Cuando los viriones maduran tienden a concentrarse a lo largo del margen nuclear, por el contrario en etapas tempranas se ubican en el centro del núcleo. WSSV ha sido catalogado como un vaculoviridae pero Van Hulten *et al.* (2001) comentan que difiere profundamente de todos los virus conocidos y que es representativo de una nueva familia la cual han llamado Withespotviridae, consideran que no está ni cercanamente relacionado a los baculoviridae en las bases de genes filogénicos. Aunque la forma de los viriones y de la nucleocápside es parecida a los baculoviridae, la talla del DNA viral es de cerca de 300 Kpb está por encima del rango (100-18 Kpb) del genoma de los baculoviridae.

Los signos macroscópicos de TSV dan inicio en la fase de postlarva de 14-40 días por eso los camarones son de 0.1 g a menos de 5 g sin embargo los camarones grandes también pueden ser afectados pero con menos frecuencia.

Algunos camarones que mostraron signos de TSV preagudo estaban típicamente en el estadio tardío del ciclo mudal y por eso presentaban cutícula suave y el intestino vacío. El TSV preagudo termina con la muerte en el proceso mudal. Los organismos moribundos muestran expansión de cromatóforos rojos en los apéndices pero principalmente en los urópodos, telson, pleópodos y en la superficie del cuerpo. Los sobrevivientes desarrollaron lesiones cuticulares melanizadas similares a la enfermedad bacteriana del caparazón, con o sin cutícula suave y expansión de los cromatóforos rojos con un comportamiento normal y buena alimentación. Se propuso que es la segunda fase de la enfermedad y que los camarones presentan signos de recuperación o una forma crónica de TSV. En el estudio histopatológico los ejemplares analizados se caracterizaron por lesiones multifocales de necrosis en el epitelio cuticular de la superficie general del cuerpo, los apéndices y branquias, como lo

menciona Lightner, (1998) y fueron abundantes los cuerpos de inclusión intracelulares esféricos basofílicos, además de los signos macroscópicos característicos ya descritos de la enfermedad. No se encontraron lesiones en intestino posterior, esófago y estómago como lo mencionan los autores.

En los organismos infectados con IHNV, la principal característica fué el rostro o el cuerpo deforme, en cuanto a los sitios de infección solamente se encontró en branquias y en epitelio cuticular. En histología los cuerpos de inclusión fueron Cowdry tipo A, eosinofílicos a basofílicos, cromatina marginada y núcleos hipertrofiados muy abundantes. Lightner (1995) demostró en histología cuerpos de inclusión Cowdry tipo A, eosinofílicos con H&E, inclusiones intracelulares con cromatina marginada, núcleos hipertrofiados de las células del ectodermo (branquias, epidermis, epitelio hipodermal e intestino, cordón nervioso y ganglio nervioso) y de origen mesodérmico (órganos hematopoyéticos, glándula antenal, gónadas, órgano linfoide, tejido conectivo y músculo estriado).

Las gregarinas del género *Nematopsis* sp. regularmente se encontraron en los dobleces del intestino posterior y en el estómago. Concordamos con Clifford (1997) en cuanto a que las gregarinas no impactan de manera directa la salud del camarón, sin embargo pueden afectar la digestión de los nutrientes y sus órganos de fijación sobre el epitelio del tracto intestinal y así crear puntos de penetración para una invasión bacteriana.

En las granjas camaronícolas es común que se realicen análisis regulares de gregarínidos, la mayoría de las veces en fresco, por el personal especializado, siendo la cantidad de gregarinas, así como también de epibiontes un indicador que alerta a los administradores de las granjas con respecto a la calidad del agua.

Zoothamnium sp. es un protozooario ciliado epicomensal que ha sido reportado en conjunto con otros géneros como epibiontes de camarones peneidos tanto del Golfo de México como del Pacífico. Aunque los epibiontes son habitantes comunes tienen gran importancia sanitaria, porque al adherirse con el tallo a las branquias o exoesqueleto como se encontró en esta ocasión, causan erosión

de los tejidos, obstaculizan la respiración y la locomoción ocasionando otras infecciones del camarón por otros patógenos oportunistas, de esta manera coincidimos con Yang y Wu (1992) y Karunasagar y Karunasagar (1996) que además afirman que disminuyen la habilidad fisiológica. Lightner (1980) menciona que el formol y el glutaraldéhidro han resultado efectivos en el control de estas enfermedades de branquias.

Epystilis sp. es otra especie de ciliados muy comunes que fueron encontrados en lamelas branquiales y en el cutícula a menudo asociado a *Zootamnium* coincidiendo con Lightner (1984) en que se encuentran en branquias y pereiópodos. La característica que diferencia a *Epystilis* sp. es el tallo dicotómico sin mionema, no contractil.

Acineta sp. se encontró en branquias y en la cutícula del camarón como lo describió James (1993). Johnson (1978) quien menciona que *acineta* se encuentra en la superficie del cuerpo y branquias. Overstreet (1985) hace el comentario que la mayoría de los autores no le dan importancia a estos parásitos y los consideran como tal hasta que las colonias crecen lo suficiente para competir por el oxígeno con el hospedero causando retardo en el crecimiento, estrés y finalmente la muerte. Overstreet (1979) dice que los

camarones se estresan por las bajas concentraciones de oxígeno al estar infestados por éstos parásitos. En conclusión Los organismos epicomensales, son buenos indicadores del detrenimiento por factores ambientales; como altas densidades de población en estanques de cultivo, exceso de alimentación, acumulación de materia orgánica, bajas de oxígeno, en particular. Así como de organismos patógenos primarios que predisponen a los penaeidos al ataque de otros protozoarios, bacterias y hongos.

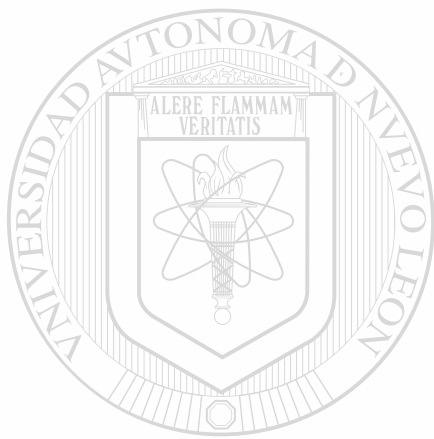
Las especies de bacterias *Vibrio* encontradas en mayor cantidad fueron: *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* y otras especies que se encontraron en pequeñas cantidades, estas bacterias fueron Gram negativas con oxidasa positiva. Lightner 1995 comenta que los vibrios son bacterias con estas características y que los agentes reportados con más frecuencia son: *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y

otras *vibrio* spp. Los vibrios se consideran como organismos oportunistas a las enfermedades ya existentes, *Vibrio* provocó infecciones letales a consecuencia de otras condiciones en este caso infecciones por virus, lo cual provocó que los camarones se encontraran debilitados y fueran presas fáciles para bacterias *Vibrio*. Coincidimos con Clifford (1997) en su comentarios de que las vibriosis es el resultado de las infecciones por *vibrios* patogénicos oportunistas que forman parte de la microflora normal del camarón. Por otra parte también comenta que las infecciones pueden aliviarse aplicando alimento medicado y hasta pueden reducir las mortalidades, pero no eliminan la causa principal de la infección bacteriana. Se ha probado con algunos antibióticos como el Sarafin, ácido axolinico, Romet-30, cloramfenicol y oxitetraciclina. Estos medicamentos no están probados por agencias gubernamentales para su uso en el cultivo de camarón.

En base a los datos obtenidos de la correlación de Spearman entre los parámetros fisicoquímicos del agua y las enfermedades presentadas en el trabajo, se concluye que no hay asociación significativa entre cada uno de los parámetros con respecto a las enfermedades. La temperatura presentó un rango de 11 a 32 °C, se reportó muy baja en 5 estanques en el mes de octubre, pero en promedio se mantuvo arriba de los 20°C para lo cual Boyd (1990) menciona rangos de 26 a 28 °C y Clifford (1997) de 28 a 32 °C como óptimos para el cultivo de camarón. El oxígeno disuelto registrado fué de 3 a 8 ppm. resultó ligeramente por encima de los rangos mencionados por Clifford (1997) que recomienda de 3 a 6 ppm. y Chamberlain (1988) considera como críticos entre 1.9 y 2.2 ppm. Clifford (1997) considera un rango muy amplio para la salinidad de 14 a 45 ppm., en este cultivo el rango fué de 19 a 39 ppm., por lo tanto se considera dentro de la normalidad. El pH también cayó dentro de los rangos ideales, fué de 7.0 a 8.3. Clifford menciona 8.1 a 9 ppm. y Chamberlain 6 a 9 ppm. La amonía, nitritos y nitratos estuvieron en los promedios mencionados por los mismos autores. La alcalinidad estuvo muy alta de 104 a 196. Lo cual no es considerado de importancia por los mencionados autores. En

general estos parámetros cayeron dentro de lo normal y no se considera a la calidad de agua como el verdadero problema.

En lo que se refiere a parámetros fisicoquímicos contra enfermedades no se comparó con otros trabajos debido a que no se encontró bibliografía.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

XI.- RECOMENDACIONES

Algunas de las recomendaciones generales para contrarrestar las enfermedades dentro de las granjas de cultivo de camarón y que en teoría se han estado manejando pueden ser las siguientes:

1.- Preparación de estanques después de cada cosecha con rastreo y encalado. Desinfectar el material de trabajo con cloro.

2.- Colocar mallas adecuadas en la entrada de agua a los estanques para evitar la entrada de otros organismos portadores del virus.

3.- Evitar fauna nosiva (perros y aves) y desinfectar reservorio y canal de llamada.

4.- Introducir semilla de laboratorio debidamente certificada.

5.- Monitoreos sanitarios permanentes en estanques y zonas aledañas.

6.- Evitar cambios bruscos de pH, salinidad, temperatura, oxígeno, así como las altas concentraciones de amonio, nitritos, etc. ya que estos factores provocan el estrés en los camarones.

7.- Utilizar charolas para alimentar y alimento de buena calidad enriquecido con vitamina C.

8.- Utilizar inmunoestimulantes.

9.- Utilizar fertilizantes inorgánicos para favorecer el pastoreo.

10.- Conservar la basura en lugares aislados (quemar).

LITERATURA CITADA

Alessio, L. M. 1996. Identificación de Protozoarios del camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en granjas de los Estados de Sonora y Sinaloa. Tesis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U. A. N. L.

Bell, A. T. y Lightner, D. V. 1988. A handbook of normal shrimp histology. Spec. Publ. No. 1, World Aquaculture Society. Baton Rouge.

Bonami et al., 1990. Purification and characterization of IHHN virus of penaeid shrimp. *J. General Virology*. 71: 2657-2664.

Boonyaratpalin, S; K. Supamattaya, S. Direkbusaracom, U. Aekpanithanpong, C Chantanachooklin. 1993. Non-occludes baculo-like virus, the causative agent of yellow head disease in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology*. 28: 103-109.

Buenaventura, B. D. 1996. Experiencias en el cultivo de camarón en el Ecuador. *Camaronicultura '96. Foro Internacional, Mazatlán, Sinaloa. México. Pp. 84-94.*

Casillas, H. R. 1994. El cultivo de camarón en la República del Ecuador, *Rev. Soc. Académica ITSON. DIEP. Cd. Obregón, Sonora, Año 2 No. 4: 25-26.*

Clifford III, H. C. 1997. Manual de operaciones para el manejo de Super Shrimp en estanques. Super Shrimp, S. A. De C. V. División de Servicios Técnicos.

Couch, J. A. 1978. Diseases, parasites and toxic responses of commercial penaeid shrimps of the Gulf of Mexico and South Atlantic Coasts of North America. *Fish. Bull.* 76: 1-44.

Dawes, C. J. 1988. Introduction of Biological Electron Microscopy: Teory and Techniques. Ladd Research Industries Publisher, Burlington, Vermont. Pp. 311.

De la Cerda, J. G. 1999. Caracterización físico-química del agua en el parque acuícola El Siari, Sonora y alternativas para su tratamiento. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N. L. México.

Durand, S; DV. Lightner, RM Redman, JR Bonami. 1997. Ultraestructure and morphogenesis of white spot síndrome baculovirus (WSSV). Diseases of Aquatic Organisms. Vol. 29:205-211.

Galavíz. S. L. 1999. Virus del síndrome de taura (STV) y virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). Agentes causantes de epizootias en la camaronicultura Mexicana. (1996-1999). Tesis de Doctorado en Ciencias de la F.C.B. de la U. A. N. L.

Inouye, K; S Miwa, N Oseco, H Nakano, T Kimura, K Momoyama, M Hiraoka. 1994. Mass mortalities of cultured kurama srhimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993: electron microscopic evidence of the causative virus. Fish Pathology. 29:149-158.

Jimenez, G. F. 1996. Acciones para prevenir enfermedades. Memorias del Foro Internacional de Camaronicultura 1996. Agosto 1-3. 1996. Mazatlán, Sinaloa, México.

Johnson, S. K. 1978. Handbook of shrimp diseases. Texas A & M. Sea Grant College Program. pp. 1-23.

Jory, Darryl E. 2001. Manejo integral del alimento de camarón, de estanques de producción camaroneros y principios de bioseguridad. Expo Internacional del Camarón Guasave 2001.

Kamonporn, T. 1992. Diseases of the freshwater prawn *Macrobrachium rosebergii* in Thailand. Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, Bali, Indonesia. Manila Philippines Fish Health Section Asian Fisheries Society. Eds. Shariff, M.; Subasinghe, R.P.; Arthur, J.R. 89-95 pp.

Karunasagar, I.; I. Karunasagar. 1996. Shrimp diseases and control. Krishnamoorthi, B.; K.N. Krishnamoorthi; P.T. Meenakshisundaram; K.N. Nayar. Madras India Aquaculture Foundation of India. pp 63-67.

Kasomchandra, J; S Boonyaratpalin, T Itami. 1998. Detection of white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Asia: Microscopic observation and polymerase chain reaction. *Aquaculture* 164:243-251.

Krause, D. N. 1959. Parasites of the commercial shrimps *Penaeus aztecus* (Ives), *P. duorarum* Burkenroad and *P. setiferus* (Linnaeus) *Tu lane Stud. Zool* 7: pp 123-144.

Lightner, D. V., RM Redman, D. A. Donald, R. R. Williams and L. A. Pérez. 1980. Major diseases encountered in controlled environment culture of penaeid shrimp at Puerto Peñasco, Sonora, México. Proceeding third U. S. Japan Meeting on Aquaculture. Kyoto, Japan. Pp. 75-97.

Lightner, D. V. 1983. Diseases of cultured penaeid shrimp. Pages 289-320 in J. P. Mc Vey, Editor, CRC Handbook of Mariculture, Vol. 1. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Boca Ratón, Florida.

Lightner, D. V. 1985. A review of the diseases of cultured penaeid shrimp and prawns with emphasis on recent discoveries and developments Proc. First Int. Conf. Culture of Penaeid Prawns/Shrimps. SEAFDEC. Aquaculture Department. Pp. 79-103.

Lightner, DV;RM Redman. 1989. Baculovirus penaei in *Penaeus stylirostris* (Crustacea:Decapoda) cultured in México: unique cytopathology and a new geographic record. *Journal of Invertebrate Pathology* 53: 137-139.

Lightner, DV; RM Redman; JP Bonami. 1991a. Host, geographic range and diagnostic procedures for the penaeid virus diseases of concern to shrimp culturists in the Americas. Pp. 173-196. In: P. DeLoach. WJ Dougherty, and M. A. Davidson (eds.) *Frontiers of shrimp Research*. Elsevier, Amsterdam.

Lightner, DV. RM Redman; JP Bonami1991 b. Geographic distribution, host and diagnosis procedures for the penaeid virus diseases of concern to shrimp culturists in the Americas. Pp. 573-592. In: A. W. Fast and L. J. Lester (eds.) *Cultured of Marine Shrimp: Principales and Practices*. Elsevier.

Lightner, D. V. 1993. Diseases of cultured penaeid shrimp. *Handbook of mariculture*. 2nd. Edition. Vol. 1 National Sea Grant College Progeam, Silver Spring, Maryland. Pp. 30-40.

Lightner, D. V. 1995. Taura Syndrome in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda: Gross sugns, histopathology and non-infections diseases in commercial shrimp culture aquat. *International Symposium of Aquatic Animal Healt* (Seattle, 4-6 september 1994) p. V-3.

Lightner, D. V. 1996. A handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultures Penaeid Shrimp. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana, USA. Section 4 bacteria.

Lightner, DV; RM Redman, BT Poulos, LM Nunan, JL Mari, K. Hasson. 1997^a. Status of the major virus diseases of concern to the shrimp farming industries of the americas: known distribution, host and available detection methods.

Proceedings of the IV Central American Symposium on Aquaculture, Abril 22-24, 1997. Tegucigalpa, Honduras. 36-48.

Lightner, DV; RM Redman, BT Poulos, LM Nunan, JL Mari, KW Hasson. 1997b. Risk of spread of penaeid SHRIMP VIRUS IN THE Americas by the international movement of live and frozen shrimp. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 16:146-160.

Lightner, DV; KW Hasson, BL White, RM Redman. 1998. Experimental infection of western hemisphere penaeid shrimp with asian white spot syndrome virus and asian yellow head virus. Journal of Aquatic Animal health. 10:271-281.

Luna, L. G. (Ed) 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Force Institute of Pathology. 3th ed. Mc. Graw Hill, New York, N. Y. 258 pp.

Ma. D.; L. Zhu. 1991. Study on the control of the diseases of *Zoothamnium* in prawn by using chlorhexidinum. Mar. Fish. Haiyang Yuye 13(5): 205-206.

Mariëtte C. W. Van Hulst*, Jeroen Witteveldt*, Sander Peters, + Nico Kloosterboer*, Renato Tarchini, + Mark Fiers, Hans Sandbrink, + René Klein Lankhorst, + Just M. Vlak*, 1. Rapid Communication. The White Spot Syndrome Virus DNA Genome Sequence. Laboratory of virology, Wageningen University, Binnenhaven 11, 6709 PD Wageningen, The Netherlands. Received March 19, 2001; returned to author for revision May 4, 2001; accepted May 14, 2001.

Martinez, M. O. 1981. Manual de prácticas de histología. F. C.B. de la U. A. N. L. Laboratorio de morfología. Monterrey, N. L. México. Pp. 6-40.

Nandi, N.C. and A.K. Das. 1995. Epizootiology of *Epistylis* infestation in shrimp farms of West Bengal. Seafood Export J. 26(11):17-19.

Nunan, L. M; Lightner, D. V. 1997. Development of a non-radiative gene probe by PCR for detection of White Spot Syndrome Virus WSSV. *Journal of Virological Methods*. 63:193-201.

Overstreet, R. M. 1973. Parasites of some penaeid shrimp with emphasis on reared hosts. *Acuaculture*. 2:105.140.

Overstreet, R. M. 1985. Some parasitological Aspects of Shrimp Culture in the United States *Parasitology and Pathology of marine organisms of the World Ocean*, pp. 117-122.

Pantoja, C. R. 1995. Síndrome de Taura. Reunión de prod. De camarón cultivado. Organizado por purina de Mazatlán, Sinaloa. México.

Pak, JH; YS Lee. 1996. Patological study of a infectious lymphoid organ necrosis virus infection in penaeid shrimp (*Penaeus orientalis*). *Journal of Veterinary Research*. 36: 1013-1016.

SEMARNAP (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1996. Informe Anual de Actividades. Programa Nacional de Sanidad Acuícola. Dirección General de Acuicultura.

SEMARNAP (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1998. Informe Anual de Actividades. Programa Nacional de Sanidad Acuícola. Dirección General de Acuicultura.

Sudha, PM; CV Mohan, KM Shankar, A Hegde. 1998. Relationship between white spot syndrome virus infection and clinical manifestation in Indian cultured penaeid shrimp. *Acuaculture* 167:95-101.

SPSS for Windows. Release 10.01. Standard Version. Copyright SPSS Inc.1989-1999.

Statsoft, Inc. 1997 Statistica for Windows (computer program manual) Tulsa, OK: Statsoft Inc, 2300 East 14 th Street Tulsa, OK. 74104.

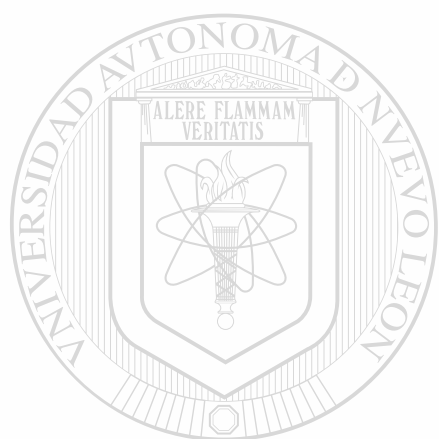
Wongteerasupaya, C; J E Vickers, S. Sriurairatana, G L Nash, A Akarajamon, V Boonsaeng, S Panyim, A Tassanakajon, B Withyachumnarkul, T. W. Flegel. 1995. Anon- occludes systemic baculovirus that occurs in cell of ectodermal and mesodermal origin and cause high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Diseases of aquatic Organisms. 21: 69-77.

Yang, J. And Y. Wu. 1992. Research of filamentous bacteria disease of cultivated shrimps (*Penaeus chinensis*) by SEM. Donghai Mar. Sci. Donghai Haiyang 10(4): 56-62.

Zar, J. H. 1999. Bioestatistical Analysis, 4th Ed. Prentice-Hall, U.S.A.

Zenyuan, 1996. Experiencias en el cultivo de camarón en China. Camaronicultura '96. Foro Internacional, Mazatlán. Sinaloa. México. Agosto 6 p.p.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



