

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La industria del cultivo del camarón es una actividad económicamente importante para los países exportadores en el Continente Americano por ser uno de los sectores productivos de más rápido crecimiento, además de que representa un medio factible para atenuar el faltante proteico que los esquemas tradicionales de producción terrestre no pueden cubrir (Zendejas, 1999).

La producción mundial de camarón cultivado, es una de las áreas de la acuicultura con crecimiento más vertiginoso. Durante 1998 alcanzó niveles récord, con un volumen estimado de 737,200 toneladas, 12% más que en 1997, de las cuales el hemisferio oriental produjo el 72% y el occidental el 28% restante (Zendejas, 1999). Dentro de los países productores de camarón en las Américas, el Ecuador contribuyó en 1997 con el mayor volumen (198,200 m³) y USA con el menor (1,200 m³), siendo en la actualidad el “camarón blanco del Pacífico” *Litopenaeus vannamei* la especie más ampliamente cultivada (Rosenberry, 1997; Jory, 1995).

Por otra parte, una de las principales limitantes de esta actividad camaronícola son las enfermedades infecciosas ocasionadas por patógenos virales, bacterianos y parasitarios (Lightner, 1996a; Lightner *et al.* 1997, Rosenberry, 1997; Hasson *et al.* 1999a). Las infecciones virales en el camarón frecuentemente causan elevadas mortalidades con la consecuente pérdida de la cosecha de camarón (Browdy y Bratvold, 1998), estando representados estos patógenos principalmente por el virus de la necrosis hipodermal y hematopoyética infecciosa o *IHHNV* (Bell y Lightner, 1984, 1987; Lightner *et al.* 1992b), virus de la mancha blanca o *WSSV*, virus de la cabeza amarilla o *YHV* (Flegel, 1997) y el virus del síndrome Taura o VST (Chamberlain, 1994; Lightner, 1996b; Bonami *et al.* 1997, Hasson *et al.* 1999a,b).

El virus del síndrome Taura causa una de las enfermedades más importantes de camarones peneidos cultivados en el Continente Americano, con pérdidas económicas

estimadas en 1,2 a 2 billones de dólares en las cosechas reportadas entre 1992 y 1996 (Lightner, 1996b). Desde la aparición del síndrome Taura en Ecuador en 1992 (Jiménez, 1992) y la demostración del agente causal en camarones procedentes del Ecuador (Hasson *et al.* 1995); esta enfermedad se diseminó primeramente en camarones *Litopenaeus vannamei* en Ecuador, Brasil, Colombia, Perú, Panamá, Belice, Costa Rica, Nicaragua, El Salvador, Honduras, Guatemala, México y los Estados Unidos de Norteamérica (Lightner, 1996b; Brock *et al.* 1995, 1997; Lightner *et al.* 1997; Lightner, 1998a; Hasson *et al.* 1999b).

Una vez que el virus del síndrome Taura ha infectado a los camarones de granja o de laboratorio, estos patógenos pueden ser diagnosticados mediante diversas técnicas que están actualmente disponibles (Hasson *et al.* 1999a). A la fecha algunas de estas técnicas son descritas en la literatura (Lightner, 1996a; Brock, 1992; Brock y Main, 1994; Hasson *et al.* 1999a). El método más usado por los laboratorios de diagnóstico de enfermedades de camarón es la histopatología, utilizando la técnica de Hematoxilina y Eosina (H&E) de tejidos embebidos en parafina, técnicas moleculares de “dot blot” y análisis de hibridación *in situ* (Lightner, 1998b; Hasson *et al.* 1999a). En el caso de la enfermedad causada por el virus del Síndrome Taura (VST) en el “camarón blanco del Pacífico” *L. vannamei*, el diagnóstico se realiza por detección histológica, ultraestructural e hibridación *in situ* de la lesión patodiagnóstica descrita en dos fases de la enfermedad; la aguda y la crónica (Lightner *et al.* 1994; Brock *et al.* 1995; Hasson *et al.* 1995; Brock *et al.* 1997; Lightner *et al.* 1995, Lightner, 1996a). Sin embargo, otros autores consideran la existencia de tres fases de la enfermedad: la aguda, la de transición y la crónica (Hasson *et al.* 1998; Hasson *et al.* 1999c; Poulos *et al.* 1999), las cuales se manifiestan en forma diferente; la aguda donde hay altas mortalidades, los ejemplares se muestran aletargados, con expansión de cromatóforos en el cuerpo, urópodos, apéndices y antenas, coloración rojiza en el cuerpo, exoesqueleto suave y músculo opaco; la de transición en la que se aprecian manchas negras en el exoesqueleto y la crónica en donde cesan las mortalidades, no se observan lesiones externas y solo hay hipertrofia del órgano linfoide.

El síndrome Taura es una enfermedad relativamente nueva que no ha sido bien estudiada a fondo en nuestro país. Aparecieron los primeros brotes y mortalidades a principios de los meses de abril y mayo de 1995 en el “camarón blanco del Pacífico” *Litopenaeus vannamei* cultivados en granjas camaroneras localizadas en el Municipio de Guasave, Sinaloa. Esta epizootia se caracterizó porque los camarones presentaban letargo, intestino vacío, opacidad muscular, cutícula suave, cola, antena y apéndices enrojecidos. La muerte de los organismos afectados se presentó en aquellos que tenían 1 a 18 g de peso durante el proceso de muda, con bajas mortalidades diarias, pero al acumularse, al final de la cosecha se perdía hasta un 60% del camarón cultivado. Los camarones que sobrevivían presentaban lesiones cuticulares melanizadas provocadas presumiblemente por bacterias del exoesqueleto, así como una numerosa infiltración de células inflamatorias en hepatopáncreas, órgano linfoide, pared intestinal y filamentos branquiales, lo que provocaba que los camarones subieran a la superficie y fueran presa fácil de aves. El órgano linfoide presentaba inflamación, lo cual fué aprovechado por bacterias oportunistas del género *Vibrio* y rickettsias, lo que incrementó la mortalidad de los camarones. A finales de septiembre de 1996 aparecieron brotes en granjas ubicadas en el Estado de Nayarit y esporádicamente en 1997 y 1998 en Sinaloa. Posteriormente, a mediados de junio de 1999 y 2000 surgieron nuevamente mortalidades en masa atribuidas al virus, bacterias y problemas medioambientales, específicamente la sequía, con aparición de lesiones que hacían suponer la presencia de patógenos en los camarones afectados, lo que dio motivo a que se realizaran monitoreos en las granjas localizadas en Culiacán, Mazatlán, Mochis, Guamuchil y Guasave para detectar a los camarones que presentaran lesiones patognomónicas causadas por el virus del síndrome Taura en cualquiera de las fases de la enfermedad.

Se considera que la sintomatología que presentan los organismos en las diferentes fases de infección del virus del ST varía de organismos inoculados experimentalmente a organismos cultivados; por lo que se considera de interés realizar un estudio profundo de las diferentes fases de la enfermedad en ambos medios para establecer su diferencia.

2. ANTECEDENTES

2. ANTECEDENTES

En México, las investigaciones realizadas sobre el virus del síndrome Taura (VST) en camarones peneidos cultivados o silvestres son escasas, reportándose solo en congresos o revistas de divulgación sin arbitraje. En otros países se han reportado las investigaciones más sobresalientes, resaltando lo siguiente:

Jiménez (1992) describió las principales características del síndrome Taura aparecido en granjas camaronícolas localizadas en el delta del río Taura, Golfo de Guayaquil, Ecuador. Los análisis histopatológicos de camarones moribundos revelaron una necrosis multifocal en el epitelio cuticular, intestino y tejido conectivo subcuticular. No encontró virus, bacterias, hongos u otros patógenos en las zonas lesionadas y mencionó que la enfermedad pudo ser ocasionada por estresores medioambientales donde todos los diagnósticos y experimentos indicaban que la causa más probable del síndrome implicaba una etiología tóxica.

Brock *et al.* (1995) revisaron la información disponible en relación al agente causal del síndrome Taura (ST). Mencionaron algunas hipótesis concernientes a la causa del ST. Entre ellas la exposición a los fungicidas Tilt, Calixin, Benlate y a herbicidas no especificados; exposición a sobrepoblación de algas tóxicas, toxinas secretadas por cianobacterias, alimento contaminado, agentes infecciosos parecidos a virus, bacterias o rickettsias. En este estudio sugirieron que el ST es causado por un agente infeccioso y más específicamente por un virus al cual denominaron virus del síndrome Taura o VST.

Lightner *et al.* (1995) informaron acerca de los signos clínicos, histopatología y ultraestructura del síndrome Taura (ST) de camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* procedentes de granjas de Ecuador, Colombia y Perú. El propósito fue definir el concepto de Síndrome Taura como una base para futuros estudios de esta enfermedad, ya que se conocía parcialmente el agente etiológico causal. Mencionaron que la enfermedad apareció en junio de 1992 en camarones *Litopenaeus vannamei* que habitaban cerca del río Taura en el Golfo de Guayaquil, Ecuador. Observaron como sintomatología

característica la presencia de puntos de color rojo en apéndices ambulatorios, exoesqueleto y urópodos, con necrosis multifocal e inclusiones citoplasmáticas en el epitelio cuticular.

Hasson *et al.* (1995a) realizaron un estudio en el que demostraron la etiología viral del síndrome Taura (ST) en postlarvas *Litopenaeus vannamei* libres de patógenos (SPF). El estudio consistió en realizar tres inoculaciones experimentales utilizando *L. vannamei* como hospedero de VST. Los animales testigo fueron inoculados vía intramuscular, con una suspensión cruda de virus o con virus purificado. Posteriormente se realizó análisis histológico en los camarones moribundos durante cada experimento. Todos los camarones colectados entre el primer y tercer día post-inoculación mostraron lesiones moderadas características del ST. Lesiones macroscópicas e histológicas fueron observadas en el 25-100% de los camarones sobrevivientes.

Lightner *et al.* (1995) mencionaron que el síndrome Taura (ST) ha tenido un impacto negativo en la industria camaronícola de las Américas y que se ha distribuido ampliamente como consecuencia del movimiento indiscriminado de camarones sin certificación sanitaria de una localidad a otra. Reporta al ST como causante de pérdidas catastróficas al menos en los últimos 4 años desde que se descubrió en cultivos de *Litopenaeus vannamei* en Ecuador. En 1994 y 1995 el ST causó serias pérdidas en las cosechas de los Estados Unidos de Norteamérica, afectando a mediados de 1994 dos granjas camaronícolas de Oahú, Hawai y en 1995 a cinco de las seis granjas ubicadas en las costas de Texas.

Lightner (1996b) mencionó que existen aproximadamente 20 virus conocidos en camarones peneidos marinos, la mayoría con efectos negativos en camarones cultivados en las Américas. Informó que los virus de la necrosis hipodermal y hematopoyética infecciosa (IHHNV) y ST han causado un enorme impacto negativo en la industria camaronícola por el traslado indiscriminado de lotes de camarones infectados. El virus IHHNV ha causado pérdidas catastróficas en *Litopenaeus stylirostris* silvestre y cultivado; en contraste *Litopenaeus vannamei* es relativamente resistente a la enfermedad

causada por IHNV, sin embargo la infección puede causar bajos rendimientos en el cultivo. El virus del ST afectó a *L. vannamei* y *L. stylirostris*, causando pérdidas catastróficas en el primero, mientras que el segundo es altamente resistente a la enfermedad.

Ray *et al.* (1998) reportaron la historia de los virus exóticos que afectaron camarones silvestres y cultivados en tres granjas localizadas en Texas. Mencionaron que los camarones cultivados desarrollaron el virus de síndrome Taura (VST), con pérdidas de hasta un 80% de la cosecha. El virus fue identificado posteriormente por patólogos de la Universidad de Arizona, Texas A&M y un Laboratorio de Investigación en Oceans Spring, Mississippi.

Hasson *et al.* (1999b) redefinen el ciclo de enfermedad del virus del síndrome Taura (VST) a través de análisis histológico y pruebas genómicas de camarones libres de patógenos (SPF) *Litopenaeus vannamei* inoculados experimentalmente. Encontraron que el ciclo de infección está compuesto por tres fases clínica e histológicamente diferentes. La fase inicial o aguda tenía una duración de 7 días; la segunda fase o de transición (anteriormente denominada fase crónica o de recuperación) con 5 días de duración y la fase definitiva o crónica. Destacaron que la infección en fase aguda se caracterizó por el desarrollo rápido de necrosis multifocal y altas mortalidades; usando hibridación *in situ* detectaron en esta fase tres estadios de necrosis. Los camarones sobrevivientes entran en una fase de transición, la cual se distingue histopatológicamente por lesiones melanizadas multifocales en el epitelio cuticular y desarrollo de esferoides en el órgano linfoide. Los camarones sobrevivientes de este estadio entran en fase de infección crónica después de la muda. Las características que definen esta fase son: el cese de las mortalidades, comportamiento normal, presencia de hipertrofia del órgano linfoide como resultado directo del desarrollo rápido de numerosos esferoides en el órgano linfoide y la ausencia de lesiones melanizadas visibles o daño histológico en epitelio cuticular.

Zendejas (1999) recomendó para el logro de objetivos productivos planeados en las granjas camaronícolas la selección de animales libres de patógenos y manejo eficiente de

los mismos con el objetivo de mantener la salud del animal, estricta sanidad, buen alimento y la interpretación adecuada de registros que permitan tomar el pulso del sistema de cultivo de manera continua para implementar en forma ágil las medidas pertinentes, tan pronto como los problemas sean identificados. Mencionó que se han reportado mortalidades masivas de camarón en el Sudeste Asiático, causadas por el virus de la mancha blanca (WSSV); y el virus de cabeza amarilla (YHV). En América el virus de la necrosis hematopoyética hipodermal infecciosa (IHHNV) y el virus del síndrome Taura (VST).

De Beausset (1999) dió a conocer el estado patológico del camarón de cultivo en Guatemala, Centroamérica, mencionando que en 1994 empezaron a observarse las primeras mortalidades debido a la incidencia de enfermedades, declarando que el síndrome Taura es endémico en Guatemala. Mencionó que esta enfermedad es la que más ha afectado a la industria de cultivo de camarón en ese país.

Tu *et al.* (1999) diagnosticaron mortalidades masivas de camarones blancos cultivados en Taiwán. A finales de 1998 y principios de 1999, el 90% de los estanques donde se cultivaba camarón fueron abandonados a los 30-45 días de sembradas las postlarvas procedentes del Ecuador. Observaron que los camarones empezaron a morir dentro de los primeros tres días posteriores a que ellos dejaban de alimentarse. Los signos clínicos observados fueron solamente la aparición de coloración rojiza en la cola de los camarones. La principal lesión detectada histológicamente fue la necrosis multifocal del epitelio cuticular. Ellos asumen que el virus del síndrome Taura fué transferido a camarones cultivados en Taiwán vía postlarvas contaminadas de áreas epizooticas y consideran que esta investigación es el primer reporte de una epizootia del síndrome Taura en Taiwán.

Galaviz (1999) describió el virus del síndrome Taura (VST) y virus de la mancha blanca (WSSV) en camarones peneidos colectados en los Estados del Pacífico Mexicano en base a un protocolo metodológico basado principalmente en herramientas moleculares, lo que le permitió la caracterización de los dos agentes virales causantes de epizootias.

Para el VST efectuó dos etapas de muestreo; el primero desarrollado en epizootias ocurridas durante 1996 y 1997 y el segundo durante 1999 describiendo dos fases de enfermedad: aguda (camarones rojos) y crónica (necrosis generalizada). Reportó como herramientas diagnósticas de mayor efectividad a la histopatología y a los bioensayos, basándose en los malos resultados obtenidos con la única sonda de hibridación disponible en el comercio y en el bajo límite de detección de la técnica de RT-PCR descrita en la literatura.

Otros patógenos importantes relacionados a mortalidades en el camarón cultivado son el virus IHNV, WSSV, bacterias del género *Vibrio*, microsporidios y nemátodos de los cuales se describen varios reportes:

Oveerstreet (1973) enlistó los parásitos de camarones peneidos colectados principalmente en algunas localidades del Golfo de México. Registró varias especies de protozoarios gregarinidos, larvas de nemátodos del género *Leptolaimus*, sanguijuelas *Myzobdella lugubris*, algas verdes *Schicothrix calcicola* y el hidroide *Obelia bicuspidata* entre otros. Además, propuso una posible relación entre el ciliado *Zoothamnium* y otros comensales presentes en diversas partes del camarón.

Kelly (1979) describió la patología del "camarón rosado" *Farfantepenaeus duorarum* infectado con los microsporidios *Thelohania duorara*, *Agmasoma penaei* y *Pleistophora* sp. Las infecciones por *Thelohania duorara* las encontraron diseminadas en diversos tejidos, entre ellos en la periferia del músculo estriado y tejido conectivo que rodea el tracto digestivo. Las infecciones por *T. duorara*, las detectan en el músculo dorsal abdominal, músculo adyacente a los vasos sanguíneos y ovarios; *A. penaei* es englobada generalmente por hemocitos y *Pleistophora* sp., infectando músculos estriados atrofiados.

Lightner *et al.* (1984) estudiaron las enfermedades causadas en camarones cultivados en granjas ubicadas en Puerto Peñasco, Sonora y observaron que las diversas etiologías que se han presentado son de origen viral, bacteriano, micótico, por algas tóxicas y alteraciones nutricionales. De las enfermedades detectadas, once de ellas fueron

discutidas en su etiología, epizootiología, métodos de diagnóstico y tratamientos preventivos. Las principales enfermedades reportadas fueron las ocasionadas por *Leucotrix mucor*, ciliados en branquias causadas por *Zoothamnium sp.*, *Epistylis sp.*, *Vorticella sp.*, hongos del género *Fusarium*, deficiencias de vitamina C y enfermedades virales causadas por *Baculovirus de Penaeus monodon* (MBV).

Lightner y Redman (1985) realizaron un estudio histopatológico en *Penaeus monodon* y *Litopenaeus stylirostris* procedentes de granjas de Filipinas que presentaban la enfermedad de la cola roja. Observaron como lesión principal la atrofia y necrosis de hepatopáncreas acompañada por reacción inflamatoria intensa y la melanización en la glándula antenal, órganos mandibulares y gónadas.

Lightner y Redman (1991) reportaron un rango de hospederos y procedimientos de diagnóstico de virus de peneidos cultivados en las Américas, Islas Caribeñas y Hawaii. Detectaron seis enfermedades causadas por virus, destacando las ocasionadas por *Baculovirus penaei* (BP); baculovirus de *Penaeus monodon* (MBV); virus de la necrosis del intestino medio (BMN), parvovirus hepatopancreático (HPV); virus de la necrosis hematopoyética infecciosa hipodermal (IHHNV) y el reovirus del hepatopáncreas (REO). Los procedimientos de diagnóstico descritos fueron el examen directo de heces, cortes de tejidos, bioensayos y microscopía electrónica de transmisión.

Lightner y Redman (1992) enfatizaron sobre los procedimientos de diagnóstico recientes para la detección de patógenos de camarón, hospederos naturales y rango de distribución geográfica de los virus conocidos, los cuales han aportado nuevos datos de virus que afectan el cultivo de camarones peneidos.

Lightner *et al.* (1992a) reportaron las principales enfermedades de importancia económica en camarones de las Américas e Indopacífico. Mencionaron que la expansión del cultivo comercial de camarones va acompañada por enfermedades de etiología infecciosa y no infecciosa. Entre los agentes causales de enfermedades infecciosas encontraron a los virus, rikettsias, bacterias, hongos y protozoarios.

Jones *et al.* (1994) describieron a *Paraophiodina scolecoides*, como una nueva especie de gregarina que parasitaba el intestino del “camarón blanco del Pacífico” *Litopenaeus vannamei* colectado en una granja de Texas, Estados Unidos de Norteamérica. Observaron que ésta gregarina era similar a *P. korotneffi* y *P. vibiliae*, pero podrían diferenciarse por tener gamontes asociados a una sicigia lateral. Las protozoa, mysis y postlarvas tuvieron rangos de prevalencias del 56 al 80% e intensidad de la infección de 10 a 50 parásitos por hospedero.

Daniels (1994) informó sobre el manejo de las enfermedades del camarón en estanques y laboratorios de Ecuador. Mencionó que el éxito en el control de las enfermedades en las granjas camaroneras depende, principalmente de un programa de monitoreo sistemático, la observación del consumo de alimento, la presencia de camarones muertos o enfermos en los muestreos en la etapa de crecimiento y los análisis de rutina para la identificación de bacterias y parásitos como algunos patrones de diagnóstico mediante los cuales los administradores de las granjas determinaban el estado de salud de los camarones.

Lightner (1994) mencionó que el cultivo de camarón ha crecido hasta ser una industria de peso en las Américas, con países como Ecuador, Honduras, México y Perú que contribuyen con cantidades significativas de camarón cultivado a los mercados mundiales. Reportó al “camarón blanco del Pacífico” *Litopenaeus vannamei* como la principal especie cultivada en América. También describió las enfermedades infecciosas y no infecciosas de importancia para el cultivo de camarones peneidos en el continente Americano, entre las cuales incluyó a las virales, bacterianas, parasitarias y de origen tóxico.

3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

Las fases de infección del virus del síndrome Taura (VST) en *Litopenaeus vannamei* cultivados son diferentes a los que se presentan en camarones de la misma especie inoculados experimentalmente.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

- 1) Identificar el agente causal de lesiones con características similares a las causadas por el virus del síndrome Taura (VST) presentes en camarones *Litopenaeus vannamei* cultivados.

- 2) Determinar el patrón de lesiones en los camarones.

- 3) Determinar la incidencia de lesiones similares a las ocasionadas por el virus del síndrome Taura.

- 4) Comparar las lesiones causadas presuntamente por el virus del síndrome de Taura, con las detectadas en camarones de la misma especie inoculados experimentalmente con el virus, según literatura.

- 5) Investigar si las lesiones detectadas en los camarones cultivados tienen alguna relación con bacterias y parásitos presentes en los mismos.

5. MATERIAL Y METODOS

5 MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este estudio se colectaron camarones *Litopenaeus vannamei* procedentes de granjas localizadas en los Estados de Sinaloa y Nayarit. Los camarones se examinaron macroscópicamente y microscópicamente para investigar la presencia de lesiones que tuvieran similitud con las ocasionadas por el virus del síndrome de Taura, se determinó el patrón de estas lesiones y la incidencia de las mismas. Se comparó el tipo de lesiones detectadas en los camarones cultivados con las reportadas por Hasson *et al.* (1999c) en camarones de la misma especie inoculados experimentalmente con el virus. Asimismo, se realizó análisis bacteriológico y parasitológico en los camarones colectados para determinar una posible relación entre bacterias y parásitos con las lesiones causadas por el virus del síndrome Taura.

5.1 Investigación de lesiones en *Litopenaeus vannamei* cultivados.

5.1.1. Colecta de muestras

Durante los meses de abril de 1995 a enero de 2000 se realizaron 24 visitas a diversas granjas y laboratorios de maduración de postlarvas de camarón localizadas en México en los Estados de Sinaloa (Guasave, Culiacán, Escuinapa, Navolato y Rosario) y Nayarit (San Blas y Rosamorada), donde se colectaron camarones *Litopenaeus vannamei* con diferentes estadios. La captura se realizó utilizando atarrayas o redes de mano y ésta se hizo directamente de los tanques o estanques, evitando hasta donde fuera posible provocar estrés en los organismos durante su manejo. En ocasiones, los camarones fueron trasladados vivos en hieleras con nivel de oxígeno disuelto controlado al Centro Nacional de Sanidad Acuícola, localizado en Monterrey Nuevo León y en otras, los camarones se fijaron “*in situ*” para posteriormente examinarlos en el laboratorio.

5.1.2. Examen macroscópico de los camarones.

Los camarones se observaron externamente al detalle para investigar la presencia de alguna de las fases de infección del virus, posteriormente se tomaron muestras para los diferentes análisis contemplados en este estudio.

5.1.3 Disección de organismos y observación en fresco.

Tanto los camarones sintomáticos, como los asintomáticos se disectaron utilizando la técnica de Lightner (1996), se hizo una inspección visual de los mismos y se separaron asepticamente los órganos y tejidos de los organismos, a partir de los cuales se realizaron análisis histopatológico, bacteriológico y parasitológico.

5.1.4 Examen histopatológico

5.1.4.1 Inclusión de las muestras

Las muestras seleccionadas para la inclusión se transfirieron a recipientes de plástico "tissue cassettes", se sumergieron en una solución de etanol al 50-70% y se colocaron en un procesador automático de tejidos (Tissue Tek II), donde se procesan los tejidos en alcohol etílico al 70%, 80%, 95%, 100%, xilol y parafina (CTR) por duplicado (1 hora en cada paso). Para la inclusión se utilizó el mismo tipo de parafina, la cual previamente se calentó a 60°C en una plancha de calentamiento y se vertió en los moldes conteniendo las muestras, posteriormente se conservaron a 6°C hasta lograr la solidificación de la parafina.

5.1.4.2 Cortes histológicos

Para los cortes histológicos se utilizó un microtomo (Leica) con el cual se lograron espesores de 3 a 8 μ m, se transfirieron a un baño de flotación (Technicare) y se deslizaron sobre laminillas de 25 X 75 mm. Se desparafinaron a 58-60°C/1 h en una estufa de calor seco.

5.1.4.3 Tinción de laminillas

Se utilizaron colorantes de Giemsa (Luna 1968 y Martínez 1981) y Hematoxilina-Eosina (Bell & Lightner 1988; Brock *et al.* 1992 y Lightner 1996a); además, técnicas rápidas en tejidos con fijación reciente (Hasson *et al.* 2000).

5.1.4.4 Observación de cortes histológicos teñidos

Para la observación de los cortes histológicos teñidos se utilizó microscopía de luz y para la interpretación de los mismos se utilizaron los criterios propuestos por Hasson *et al.* (1998) y Hasson *et al.* (1999c).

5.1.4.5. Microscopía electrónica de transmisión

5.1.4.5.1 Tratamiento de la muestra

Para este estudio, los camarones se trataron en forma diferente. Los camarones se inyectaron lateralmente en la zona del cefalotórax y abdomen con glutaraldehído al 6%, posteriormente se transfirieron a viales conteniendo el mismo fijador donde se mantuvieron por 2 h, para finalmente mantenerlos indefinidamente en glutaraldehído al 1% debidamente identificados. En ocasiones el glutaraldehído se substituyó por formalina-“buffer” (Adams & Bonami, 1991; Dawes 1998).

5.1.4.5.2 Post-fijación y deshidratación de las muestras

A partir de las áreas dañadas en los camarones seleccionados para este estudio, se hicieron cortes de aproximadamente 1-2 mm, se enjuagaron con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 por tres ocasiones con intervalos de 15 minutos y se post-fijaron en una solución de tetraóxido de osmio al 1%/ 1-2 h. Posteriormente, se enjuagaron por dos ocasiones con agua destilada con intervalos de 15 minutos y se pasaron por un gradiente

de alcoholes de 70-100% con intervalos de 15-20 min en cada concentración y con óxido de propileno en 2 ocasiones con intervalos de 15 min (Lightner 1996a; Dawes 1988). En algunos casos se utilizó acetona en lugar de alcohol en concentraciones de 50-100% con intervalos de 5-10 min.

5.1.4.5.3 Inclusión y polimerización.

Las muestras fijadas se transfirieron a una mezcla de óxido de propileno-resina epóxica (Spurr o Medcast) en concentraciones 3:1; 2:1; 1:1 y 1:2 respectivamente, con intervalos de 30 min en cada concentración y finalmente en resina al 100% en 2 intervalos de 30 min. Las muestras se mantuvieron en cápsulas de polietileno a 60°C/48-72 h para lograr la polimerización de la resina (Lightner 1996; Dawes 1988).

5.1.4.5.4 Cortes finos y semifinos

A partir de las muestras incluidas en resina se hicieron cortes de 0.2-0.5 μ m utilizando una cuchilla de vidrio. Los cortes se deslizaron a un portaobjetos, se fijaron por calor y se tiñeron con azul de toluidina y fucsina básica. Se seleccionaron los bloques cuyos tejidos mostraron lesiones patognomónicas, se hicieron cortes de 0.01 μ m utilizando un ultramicrotomo LKB y se deslizaron a portaobjetos. Se pasaron a un recipiente con hidróxido de amonio para eliminar el bióxido de carbono y evitar la precipitación de colorantes, se cubrieron con acetato de uranilo durante 3 min y se lavaron con agua, posteriormente se cubrieron con citrato de plomo durante 1 min y se lavaron con agua (Dawes 1988).

5.1.6.5.5 Observación microscópica

Los cortes obtenidos y teñidos por diferentes técnicas se observaron en microscopio electrónico de transmisión (Jeol o Zeiss) a 100 KV y se tomaron fotografías de los mismos.

5.2 Determinación del patrón de lesiones

El patrón de lesiones en los camarones se determinó en base al daño detectado en los órganos y tejidos de los mismos.

5.3 Incidencia de lesiones similares a las ocasionadas por el virus del síndrome de Taura.

La incidencia de lesiones se determinó de acuerdo a Margolis *et al.* (1982) y Bush *et al.* (1997), quienes la definen como el número de nuevos hospederos que han sido infectados por un parásito en particular durante un intervalo de tiempo específico dividido entre el número de hospederos no infectados presentes al inicio de dicho intervalo.

5.4 Comparación de las lesiones causadas presuntamente por el virus del síndrome de Taura, con las detectadas en camarones de la misma especie inoculados experimentalmente con el virus.

5.4.1. Lesiones detectadas en camarones cultivados.

Las lesiones detectadas en los camarones involucrados en este estudio se ubicaron de acuerdo al criterio de Hasson *et al.* (1999c) en las fases aguda, transición y crónica respectivamente.

5.4.2 Fases de infección del virus del síndrome de Taura en camarones inoculados experimentalmente con el virus según Hasson et al. (1999c).

Aguda: Desarrollo rápido de necrosis epitelial cuticular y altas mortalidades y la presencia de tres tipos de necrosis con pycnosis, hipertrofia y cariorrhexis en células de apéndices locomotores, cutícula del cuerpo, esófago, estómago, branquias e intestino.

Transición: Presencia de manchas negras en el exoesqueleto, con lesiones multifocales melanizadas de diferente forma y tamaño en el cefalotórax y abdomen, infiltrado hemocítico y la formación de esferoides en el órgano linfoide.

Crónica: Los camarones tienen comportamiento normal, presencia de hipertrofia del órgano linfoide como resultado del desarrollo de esferoides y el cese de mortalidades.

5.5 Análisis bacteriológico.

Las muestras para análisis bacteriológico independientemente de que fuera una postlarva de camarón, algún órgano, tejido o hemolinfa se colectaron con ayuda de hisopos estériles, estos se transfirieron a tubos conteniendo medio de transporte (Cary Blair, Difco) y se mantuvieron a temperatura ambiente durante su traslado al laboratorio.

5.5.1 Aislamiento de bacterias

Se utilizó el método recomendado por Lightner (1996a). Los hisopos procedentes de los medios de transporte se frotaron en una sección de placas Petri conteniendo los siguientes medios de cultivo: Agar soya tripticasa adicionado de 2.5% de NaCl, agar tiosulfito citrato sales biliares y medio Mac Conkey (Merck) y utilizando una asa bacteriológica se extendió el inóculo por estría cruzada en el resto de la placa. Todas las placas se incubaron a 35°C/24 h., las colonias aisladas se resembraron en agar-peptonasal, se incubaron a 35°C/24 h y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su identificación.

5.5.2 Identificación de bacterias

A partir de los cultivos puros obtenidos se hicieron frotis y se tiñeron por la técnica de Gram. Posteriormente a los que resultaron ser bacilos cortos Gram negativos, se les hizo la prueba de oxidasa y se sembraron con los siguientes medios de cultivo para su diferenciación bioquímica: TSI, LIA, MIO, caldo triptona, caldo arginina, caldo nutritivo

con diferentes concentraciones de NaCl, MR-VP, agar urea, citrato de Simmons; se incubaron a 35°C/24-48h y se adicionaron los reactivos necesarios para complementar las pruebas bioquímicas. Los resultados obtenidos se consultaron en tablas esquematizadas (Lightner, 1996a). Paralelamente se utilizaron métodos rápidos API-20E y API-20NE (Bio-Merieux) para los cuales se siguieron las instrucciones del fabricante.

5.6 Examen parasitológico

Las muestras cuyos órganos y tejidos mostraron signos típicos de presencia de parásitos, se fijaron y según el parásito sospechoso, se procesaron para obtener laminillas permanentes, las cuales una vez teñidas se observaron por microscopia de luz.

5.6.1 Fijación de las muestras

Las muestras se transfirieron a recipientes de plástico conteniendo formol al 10%, AFA Davidson, donde se mantuvieron durante 24 h.

5.6.2 Preparación de laminillas permanentes

A partir de branquias e intestino se prepararon macerados utilizando algunas gotas del mismo fijador y se hicieron extensiones sobre portaobjetos. Con otro tipo de muestras, tales como, hepatopáncreas, músculo, etc, la extensión sobre portaobjetos se hizo a partir de improntas o exudados. Las preparaciones se dejaron secar al aire y se tiñeron por la técnica de Giemsa (Lightner 1996).

Cuando había sospecha de muestras con la presencia de epibiontes se siguió el mismo método, substituyendo los portaobjetos planos por excavados para mantener el material húmedo. En caso de muestras positivas, a partir de este material se prepararon laminillas permanentes.

5.6.3 Observación de laminillas

Las preparaciones teñidas se observaron al microscopio de luz y de contraste de fases (Carl Zeiss III) y se tomaron microfotografías.

6. RESULTADOS

6. RESULTADOS

Durante mayo de 1995 a enero de 2000, período en que se realizaron 24 visitas a las diferentes granjas camaroneras localizadas en los Estados de Sinaloa y Nayarit se presentaron mortalidades de hasta 75% en los camarones cultivados, atribuyéndose la mortalidad al virus del síndrome Taura y patógenos asociados. Los cortes histológicos realizados en camarones *Litopenaeus vannamei* de cultivo, al ser observados por microscopía de luz y electrónica de transmisión permitieron describir diferentes tipos de lesiones en los camarones examinados, tales como necrosis multifocal del epitelio cuticular, picnosis, cariorexis, melanización cuticular, nódulos hemocíticos y presencia de cuerpos esféricos citoplasmáticos en forma de pimienta o perdigón en epitelio cuticular, branquias, intestino, pleópodos, pereiópodos y órgano linfoide; de las cuales, el patrón de las lesiones tomado como referencia para atribuir al VST como presunto agente causal de dichas lesiones fue: picnosis, cariorexis y cuerpos esféricos citoplasmáticos en los órganos afectados.

Patrón de lesión en cada fase de infección

Fase aguda.-Necrosis epitelial en superficie corporal, cabeza y abdomen, cutícula, branquias e intestino anterior y posterior con núcleos picnóticos, cariorexis con incremento de eosinofilia citoplasmática (figs.21 a 47).

Fase de transición.- Presencia de lesiones melanizadas en el exoesqueleto, presencia de nódulos hemocíticos, picnosis, cariorexis y necrosis multifocal en epitelio cuticular, branquias, intestino y órgano linfoide (figs.48 a 77).

Fase crónica.- Presencia de necrosis multifocal, desorganización celular y esferoides en el órgano linfoide (figs. 78 a 87).

Incidencia de lesiones del VST en camarones cultivados

Considerando las tres fases del ciclo de la enfermedad del virus de síndrome de Taura (VST) según el criterio de Hasson *et al.* (1999c), se estimó el porcentaje de cada fase en diferentes estanques de cultivo de granjas localizadas en el noroeste de México en el período de tiempo en que se realizó este estudio. La tabla 1 muestra que la fase aguda se presentó en 5 (16.12%) de 31 estanques perteneciendo a 25 granjas localizadas en el Estado de Sinaloa en los meses de mayo a noviembre de 1995; en cambio, la fase de transición se detectó en 26 muestras (84.0%), mientras que la fase crónica no fue detectada en los camarones examinados. En la misma tabla se observa que el exoesqueleto fue el más afectado en un grado de severidad máximo de 3. La incidencia promedio de camarones con lesiones fue de 34.04% en los estanques con camarones en fase aguda predominante y de 36.0% en los estanques con fase de transición dominante.

La tabla 2 muestra la incidencia de lesiones en camarones colectados de marzo a octubre de 1996. La fase aguda se presentó en 5 (15.62%) de 32 estanques examinados pertenecientes a 4 granjas del Estado de Nayarit y una granja de Sinaloa. La fase de transición se presentó entre marzo y octubre en 27 (84.37%) de 32 estanques pertenecientes a 19 granjas de Nayarit. Igual que en 1995, la fase crónica no se detectó y en los camarones el exoesqueleto fue el más afectado con el mismo grado de severidad. La incidencia promedio de camarones con lesiones fue de 71.3%% en los estanques con camarones en fase aguda predominante y de 55.5% en los estanques con fase de transición dominante.

La tabla 3 muestra que la fase aguda se presentó en 2 (10.52%) de 19 estanques investigados de granjas localizadas en el Estado de Sinaloa y que fueron colectados en los meses de abril y noviembre de 1997; en cambio, la fase de transición se detectó en 16 (84.29%) de 19 estanques de 12 granjas del Estado de Sinaloa entre abril y noviembre del mismo año, mientras que la fase crónica fue detectada en 1 (5.26%) de los 19 estanques. En la misma tabla se observa que el exoesqueleto y el órgano linfoide fueron los más afectados en un grado de severidad máximo de 3. La incidencia promedio de

camarones con lesiones en fase aguda fue de 46.40% y de 34.33 % en los estanques con fase de transición dominante. La fase crónica tuvieron una incidencia promedio de 57.14%.

En la tabla 4 se observa que la fase aguda se presentó en 2 (8.33%) de 24 estanques 2 ubicados el Estado de Nayarit, colectados en el mes de mayo de 1998; en cambio la fase de transición se detectó en 22 (91.66%) de 24 estanques ubicados en 16 granjas del Estado de Nayarit, que fueron colectados entre febrero y octubre del mismo año, mientras que la fase crónica no fue detectada en los camarones examinados. En la misma tabla se observa que el exoesqueleto fue el mas afectado con grados de severidad 1 a 3. La incidencia promedio de camarones con lesiones en fase aguda fue de 62.5% y de 91.6 % en los estanques con fase de transición dominante.

La tabla 5 muestra que la fase aguda se presentó en 2 (12.5%) de 16 estanques ubicados en 1 granja localizada en el Estado de Sinaloa y 1 en Nayarit, colectados en junio y septiembre de 1999; en cambio, la fase de transición se detectó en 13 (81.25%) de 16 estanques ubicados en 11 granjas del estado de Nayarit y 2 de Sinaloa, mientras que la fase crónica fue detectada solamente en 1 (20.0%) de 16 estanques , Esta fase se detectó en camarones procedentes de 1 granja de Sinaloa, La misma tabla revela que el exoesqueleto fue el mas afectado con grados de severidad de 1 a 3. La incidencia promedio de camarones con lesiones en fase aguda fue de 39.58% y de 53.71 % en los estanques con fase de transición dominante. La fase crónica tuvieron una incidencia promedio de 20.0%.

En la tabla 6 se observa que la fase aguda no fue detectada en los estanques de granjas del Estado de Nayarit. La fase de transición se detectó en 2(66.6%) de 3 estanques de granjas procedentes de dicho Estado, colectados en la misma fecha, mientras que la fase crónica fue detectada en 1 (33.3%) de 3 estanques, procedentes de una de las granjas. En la misma tabla se observa que el exoesqueleto y las branquias fueron los mas afectados con grados de severidad de 2 a 3 en la fase de transición y el órgano linfoide en la fase

crónica. La incidencia promedio de camarones con lesiones en fase de transición fue de 48.29% y de 38.46 % en fase crónica de la enfermedad.

Lesiones detectadas en camarones cultivados.

Tomando en cuenta el tipo de lesiones presentes en los camarones y con la finalidad de compararlas con las señaladas por Hasson et al. (1999b), en un estudio realizado con camarones inoculados experimentalmente, se revisaron con cuidado y se trató de agruparlas hasta donde fue posible siguiendo los criterios de dichos investigadores.

En las figuras 5 a 47 se muestran las diferentes lesiones que fueron atribuidas a la FASE AGUDA de la enfermedad; de éstas, de la 5 a la 20 corresponden a los signos clínicos, caracterizados por pigmentaciones de color café o rojizo, distribuidas por todo el cuerpo del camarón, principalmente en la cola y apéndices locomotores (pleópodos y pereiópodos). Asimismo, las antenas se tornaron quebradizas y con bandas rojizas, la mayor parte de los camarones presentaban cutícula suave, intestino vacío, opacidad muscular, anorexia, nado errático, tendiendo a permanecer en la superficie de los estanques.

Las figuras 21 a 39 muestran cortes histológicos de camarones en la fase aguda de la enfermedad causada por el VST. Se observan lesiones en tejidos con necrosis multifocal en epitelio cuticular, tejido conectivo subcuticular, branquias e intestino anterior y posterior. Se observaron núcleos picnóticos, hipertrofiados y cariorréxicos con incremento de eosinofilia citoplasmática. Las células epiteliales con frecuencia presentaron cuerpos esféricos citoplasmáticos en forma de pimienta o perdigón, eosinofílicos o basofílicos. Las lesiones detectadas en los tejidos de los camarones durante la fase aguda mostraron tres estadios de necrosis celular: 1) necrosis de células del epitelio localizadas bajo la cutícula en la superficie corporal, cabeza y abdomen. Las células mostraron núcleos picnóticos y eosinofilia citoplasmática (figs. 21 a 25). 2) necrosis en el interior de las células del epitelio cuticular, branquias, intestino y órgano linfoide; picnosis e hipertrofia celular y separación de la cutícula y epitelio epidérmico

(figs. 26 a 29 y 39) y 3) necrosis del epitelio cuticular de la epidermis y apéndices locomotores, lisis celular, lesiones con picnosis nuclear y fragmentación de núcleos (figs. 30 a 38).

Las figuras 40 a 47 muestran las observaciones por microscopía electrónica de transmisión de cortes semifinos del epitelio epidérmico de camarones juveniles durante la fase aguda de la enfermedad VST. Se observaron lesiones picnóticas en el núcleo de las células epiteliales y desorganización celular (figs. 40 y 41), separación tisular del exoesqueleto, núcleos anormales con cromatina marginal (fig. 42), necrosis multifocal del epitelio cuticular, presencia de cuerpos esféricos presuntamente correspondientes a cristales de fosfato de calcio (figs. 43 a 46), cortes finos del epitelio cuticular muestran cuerpos esféricos citoplasmáticos de 30-32 nanómetros (fig. 47).

Las figuras 48 a 77 muestran la FASE DE TRANSICIÓN de la enfermedad del VST, de éstas, de la 48 a la 55 presentan los signos clínicos. En esta fase los camarones examinados correspondieron a organismos que sobrevivieron a la enfermedad en el estanque y que presentaron lesiones externas en los segmentos abdominales y pleópodos (figs. 48 y 49) en otra, cuando fueron examinados "in vivo" se detectaron lesiones en exoesqueleto (figs. 50 y 51). En camarones juveniles previamente fijados en formol se observaron lesiones melanizadas focales y multifocales; además de expansión de cromatóforos en antenas y urópodos (figs. 52-55). Las figuras de las 56 a 64 muestran cortes histológicos de camarones durante la fase de transición, teñidas con hematoxilina-eosina; donde se observan lesiones en el exoesqueleto, con erosión de la cutícula, presencia de nódulos hemocíticos en el epitelio cuticular, tejido conectivo y músculo, además lesiones en branquias e intestino. Las figs. 56 y 57 muestran un epitelio cuticular con desorganización en la epidermis, necrosis multifocal difusa en epicutícula, endocutícula y nódulos hemocíticos. Asimismo, las figs. 58 a 60 presentan las branquias con necrosis severa dentro del epitelio lamelar, hipertrofia nuclear y picnosis, infiltración hemocítica, inflamación y cuerpos esféricos en forma de perdigón. La fig. 61 muestra al intestino con lesión picnótica y engrosamiento de la pared, con fragmentación fina de los

núcleos picnóticos, separación tisular de órganos adyacentes (fig. 62) y necrosis multifocal del epitelio, particularmente enterocitos (figs. 63 y 64).

Con microscopía electrónica de transmisión, los camarones durante la fase de transición del VST, mostraron en el epitelio cuticular de la superficie corporal, manchas negras en el exoesqueleto con lesiones necróticas, hipertrofia celular y cuerpos esféricos (figs. 65 y 66). En las branquias (fig. 67) se observó necrosis lamelar en filamentos branquiales, hemocitos granulares e hipertrofia nuclear. Asimismo, separación evidente de las células pilares y espacios interconectores (fig. 68), necrosis citoplasmática multifocal (figs. 69 y 70), filamentos branquiales secundarios con células hipertrofiadas, con vestigios de membrana celular (figs. 71 y 72). Por otro lado, cortes finos del órgano linfoide mostraron desorganización tubular, con células de la matriz estromal y fibras del tejido conectivo necrosadas, hemocitos semigranulares y pequeñas vacuolas y cuerpos esféricos en forma de pimienta o perdigón (figs. 73 a 77).

Las figuras 78 a 80 muestran las lesiones típicas de la FASE CRÓNICA del VST, cuyos signos clínicos se observan en las figs. 78 y 79. Los camarones en esta fase mostraron un patrón de comportamiento normal. Los cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina-floxina (figs. 80 a 85) al ser observados al microscopio de luz, muestran diversos morfotipos de esferoides en el tejido del órgano linfoide. Las lesiones presentan desorganización celular, necrosis multifocal e hipertrofia de los túbulos, con ausencia de lesiones histológicas en fase aguda en el epitelio cuticular. Además se observan esferoides tipo A y B, los del tipo A, como masas de células homogéneas, con células necróticas o residuos nucleares o celulares, con escasas a moderadas vacuolas citoplasmáticas y esferoides de desarrollo temprano y tardío (figs. 81 a 85).

Las figs. 86 y 87 muestran cortes finos de esferoides tipo B observados por microscopía electrónica de transmisión, en los que se detecta desorganización tubular de las células de la matriz estromal y de las fibras del tejido conectivo, necrosis tubular, hemocitos semigranulares y escasas vacuolas.

Bacterias aisladas e identificadas

Las tablas 7 y 8 muestran las bacterias detectadas en los diferentes camarones examinados. Se identificaron *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp., enterobacterias y *Bacillus* spp., predominando la presencia de diferentes especies del género *Vibrio*.

Parásitos detectados

Al examinar órganos y tejidos con signos típicos de presencia de parásitos, por microscopía de luz y electrónica se observó lo siguiente: Las figuras 88 a 100 muestran a protozoarios epibiontes del género *Zoothamnium*, los cuales fueron detectados en branquias, exoesqueleto, pleopodos y pereiópodos, cuya descripción corresponde a organismos de forma ovoide, con extremo anterior redondeado y extremo posterior plano. Poseen tallo contráctil con mionemas continuos, en su interior se pueden observar el macronúcleo en forma de herradura (figuras 88-92), citoplasma finamente granulado con vacuolas alimenticias en la parte posterior del cuerpo (Figuras 93-94). Se observaron formando colonias en branquias (Figuras 88,90,95-100). Se clasifican en el suborden Sessilina por tener el cuerpo en forma de campana, con tallos contráctiles o no contráctiles, carecer de ciliatura corporal y con frecuencia coloniales. Dentro de la familia Vorticellidae por tener tallos contráctiles, sésiles cuando maduros y frecuentemente coloniales. En el género *Zoothamnium* por poseer un macronúcleo en forma de banda, varias vacuolas contráctiles y forma alargada o de campana.

Las figuras 101 a 106 muestran en el músculo a protozoarios microsporidios, los cuales fueron identificados como *Ameson* (= *Nosema*) *nelsoni*. Los microsporidios se presentaron como masas blanquecinas o "lechosas" dentro del músculo del camarón (figura 101), con exoesqueleto de color azul (Figura 102). En los cortes semifinos realizados del músculo abdominal y teñidos con azul de toluidina-fucsina básica se observaron áreas parasitadas por microsporidios en gran parte del músculo (Figuras 103-104). En los cortes finos observados al microscopio electrónico de transmisión se detectaron diversos estadios de desarrollo vegetativo y formador de esporas

microsporidianas, iniciando con la fase de esporonte (Figura 105) y finalizando con la fase de esporas maduras con formación de organelos celulares característicos como el filamento polar y aparato de Golgi (Figura 106). Se clasificaron en el orden Microsporida por parasitar principalmente invertebrados, invadir músculo y tener una variada especialización de los organelos accesorios de la espora. Dentro de los Apansporoblastina ya que la membrana pansporoblástica estaba generalmente ausente y el esporoblasto binucleado. Se identificó como *Ameson* (= *Nosema*) *nelsoni* por formar esporas maduras en camarón y tener esporoblastos en cadena.

Las figuras 107 y 108 muestran a protozoarios gregarinidos detectados en el intestino medio y posterior del camarón. El género fue identificado como *Nematopsis* sp. (Sprague 1950). El examen en fresco muestra la fase de trofozoito distribuida en el contenido intestinal (Figura 107). En cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina-floxina se observaron trofozoitos adheridos al tejido intestinal (Figura 108). Se clasificaron dentro de los Apicomplexa por tener un complejo apical, Gregarina por ser parásitos de invertebrados y parasitar tracto digestivo, Eugregarinida por tener trofozoitos grandes y asociados y del género *Nematopsis* por tener el cuerpo dividido por septos.



Figura 1.- Colecta de postlarvas de camarón con redes manuales en zonas adyacentes al estanque.

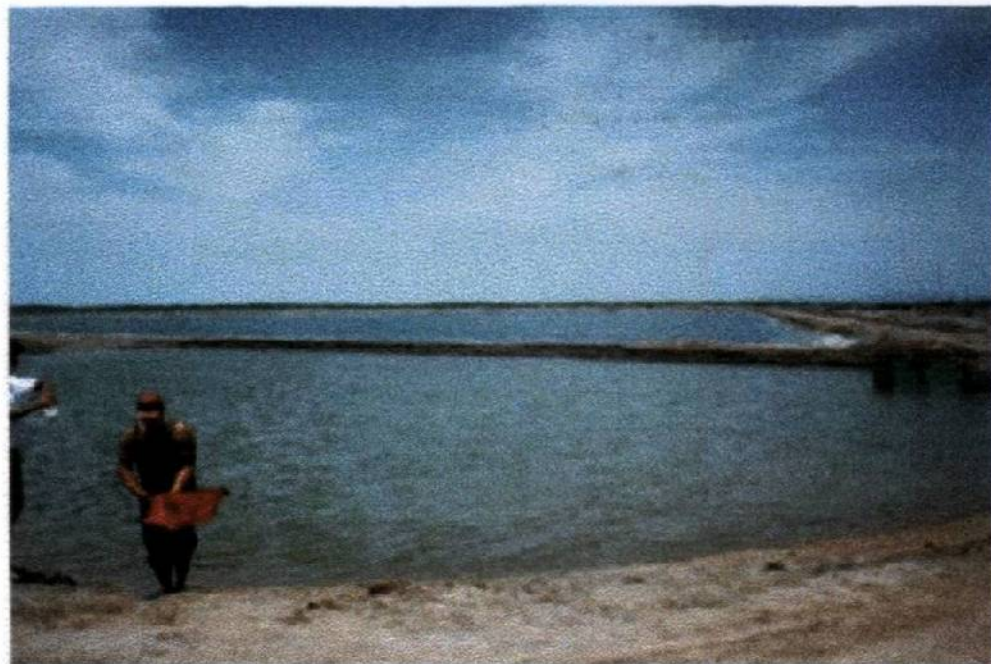


Figura 2.- Traslado de los camarones al laboratorio.



Figura 3.- Zona de colecta de postlarvas de camarones en un laboratorio de maduración.



Figura 4.- Tanques de plástico donde se capturan nauplios en un laboratorio de maduración.

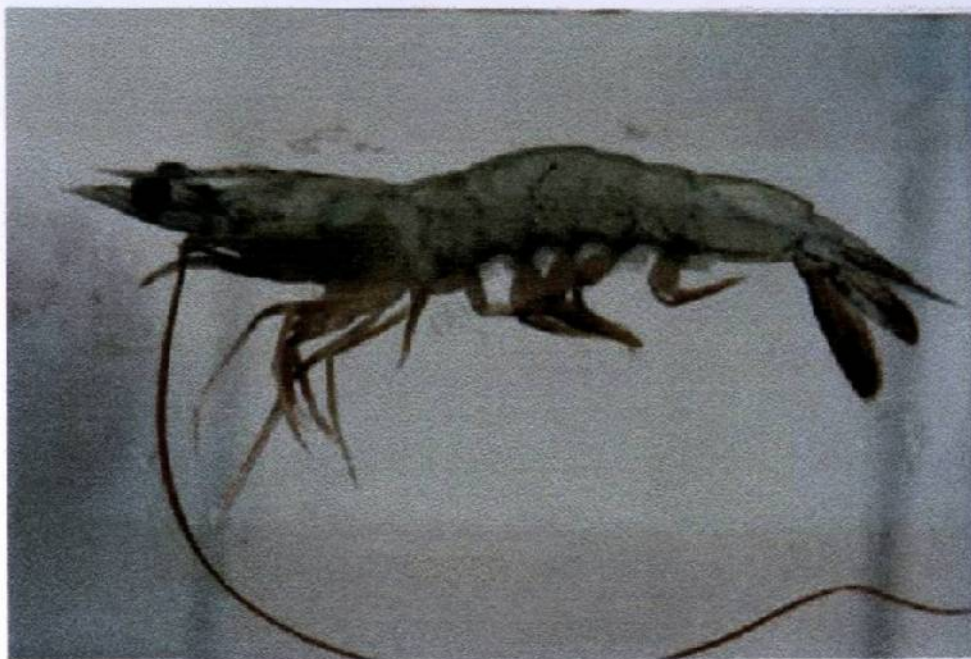


Figura 5.- Camarón juvenil *Litopenaeus vannamei* con apéndices locomotores y cola con cromatóforos expandidos. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

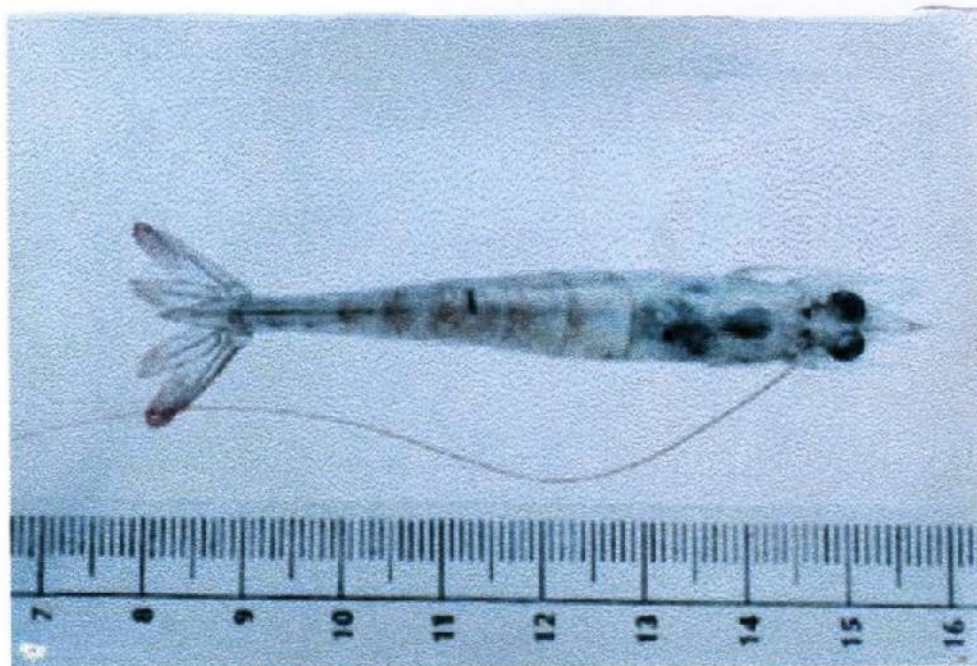


Figura 6.- Camarón juvenil *L. vannamei* con expansión de cromatóforos en el área de antenas, abdomen y urópodos. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

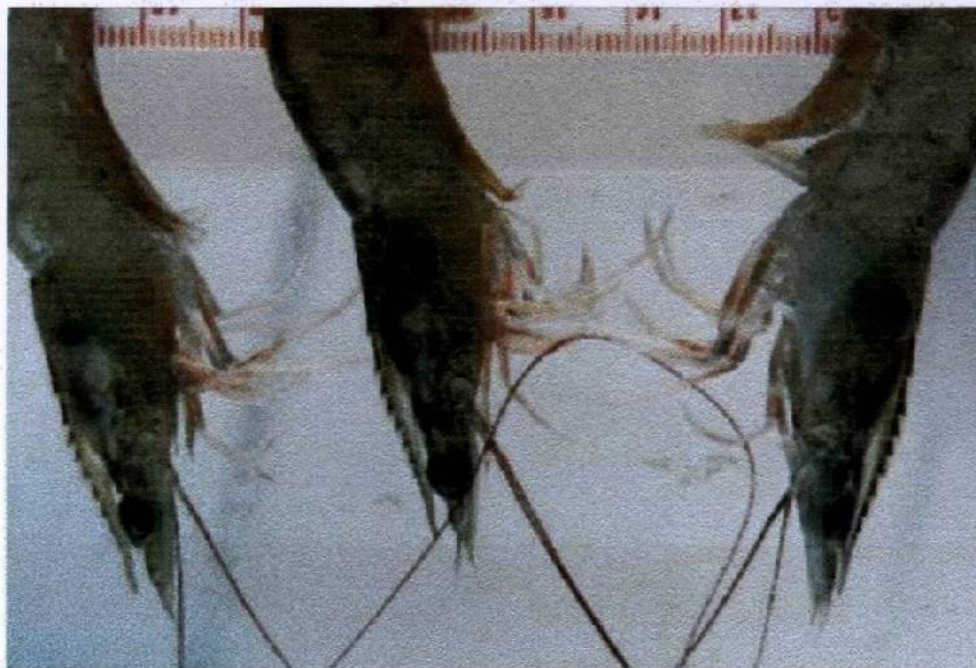


Figura 7.- Parte anterior de camarones *L. vannamei* con antenas rojas y expansión de cromatóforos. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

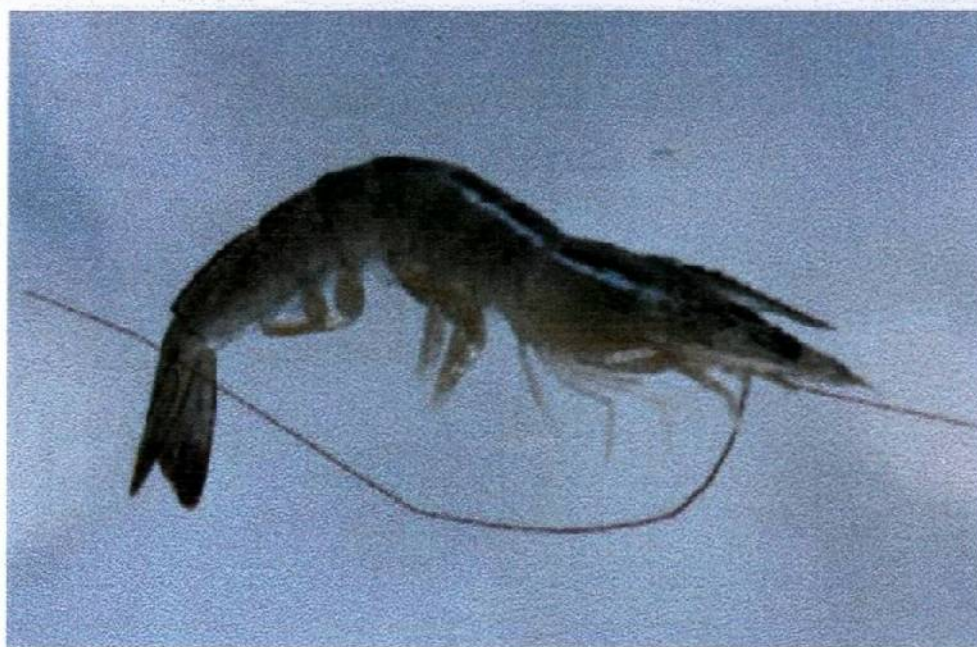


Figura 8.- Camarón juvenil *L. vannamei* con antenas rojas quebradizas. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995

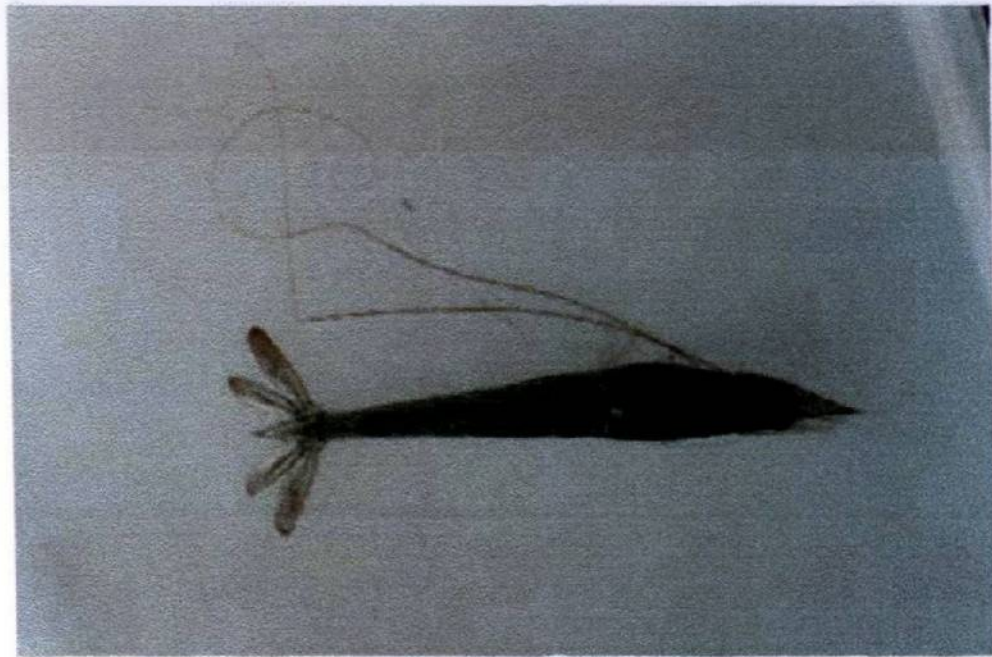


Figura 9.- Parte dorsal de *L. vannamei* mostrando coloración negruzca y cola roja con signos clínicos del síndrome Taura. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

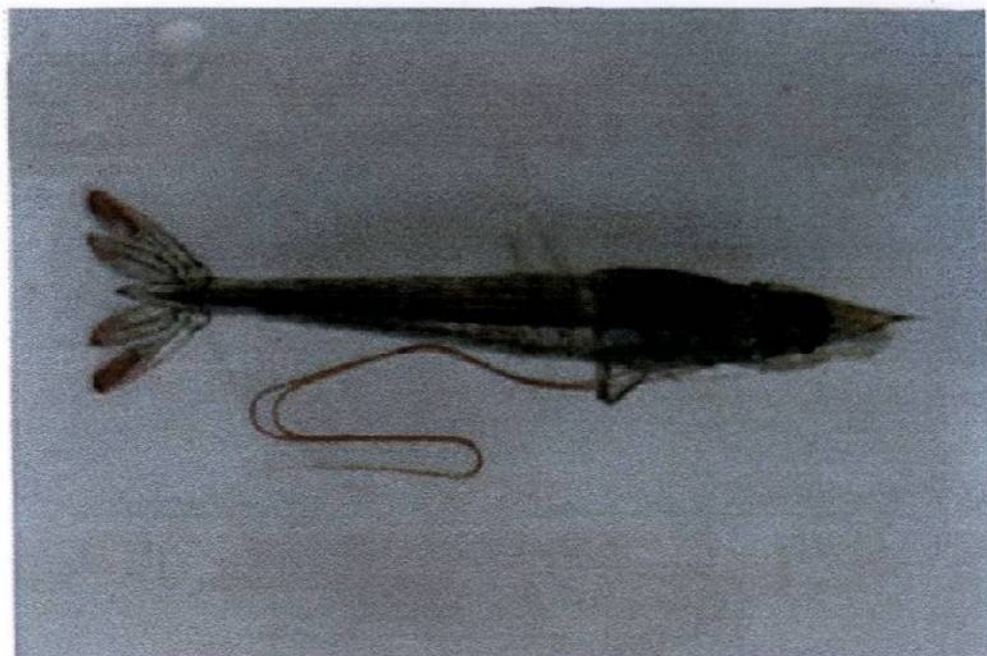


Figura 10.- Parte dorsal de *L. vannamei* mostrando coloración rojiza de antenas con bandas y urópodos típicos del síndrome Taura. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

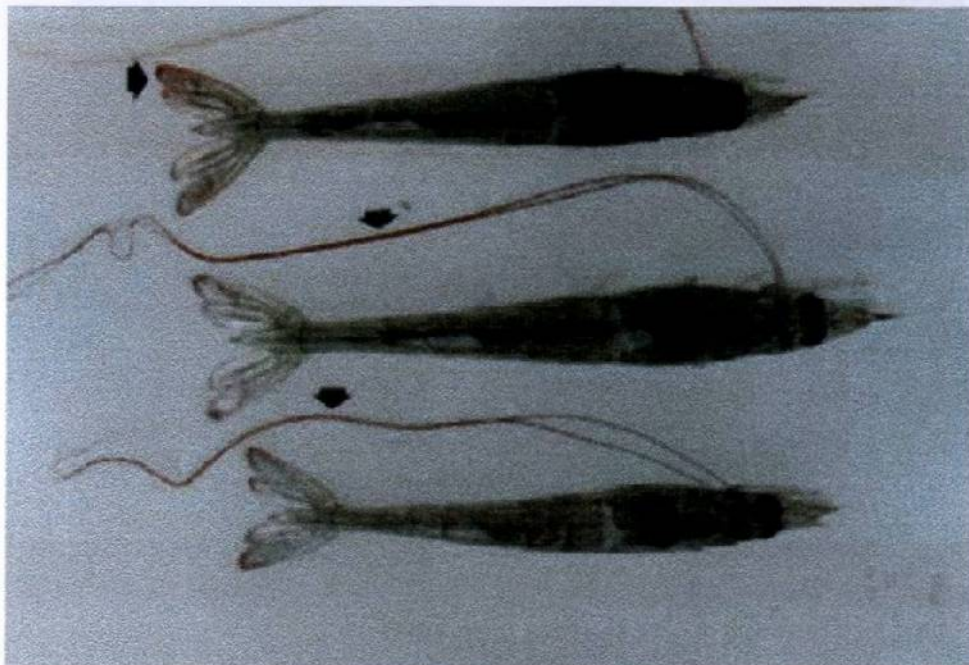


Figura 11.- Juveniles *L. vannamei* con cola roja, bandas en las antenas y expansión de cromatóforos característicos del síndrome Taura. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

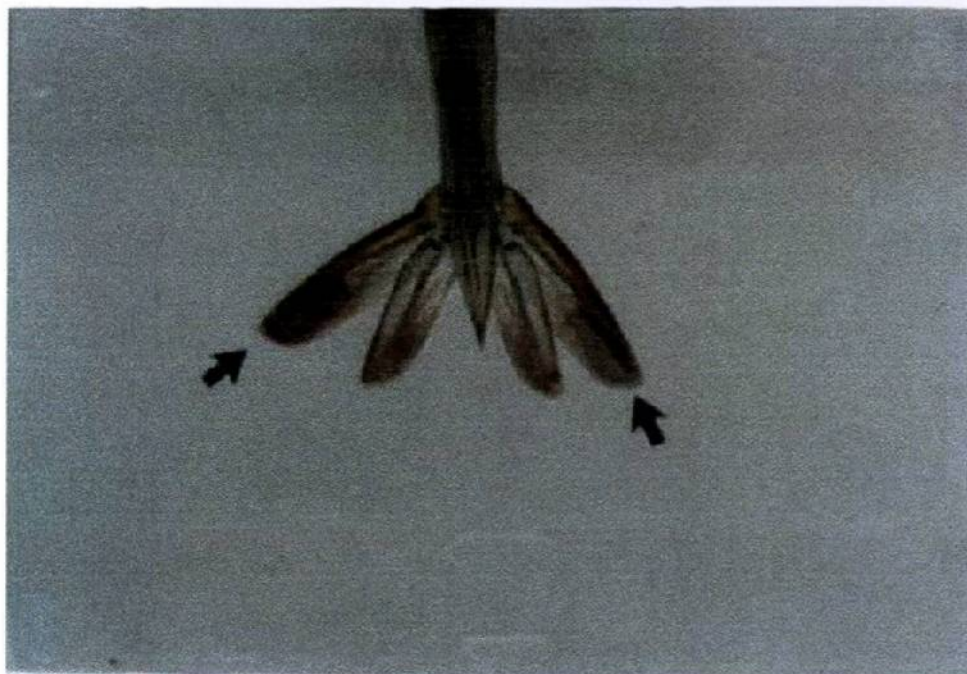


Figura 12.- Parte posterior del cuerpo de *L. vannamei* con expansión de cromatóforos en urópodos. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.

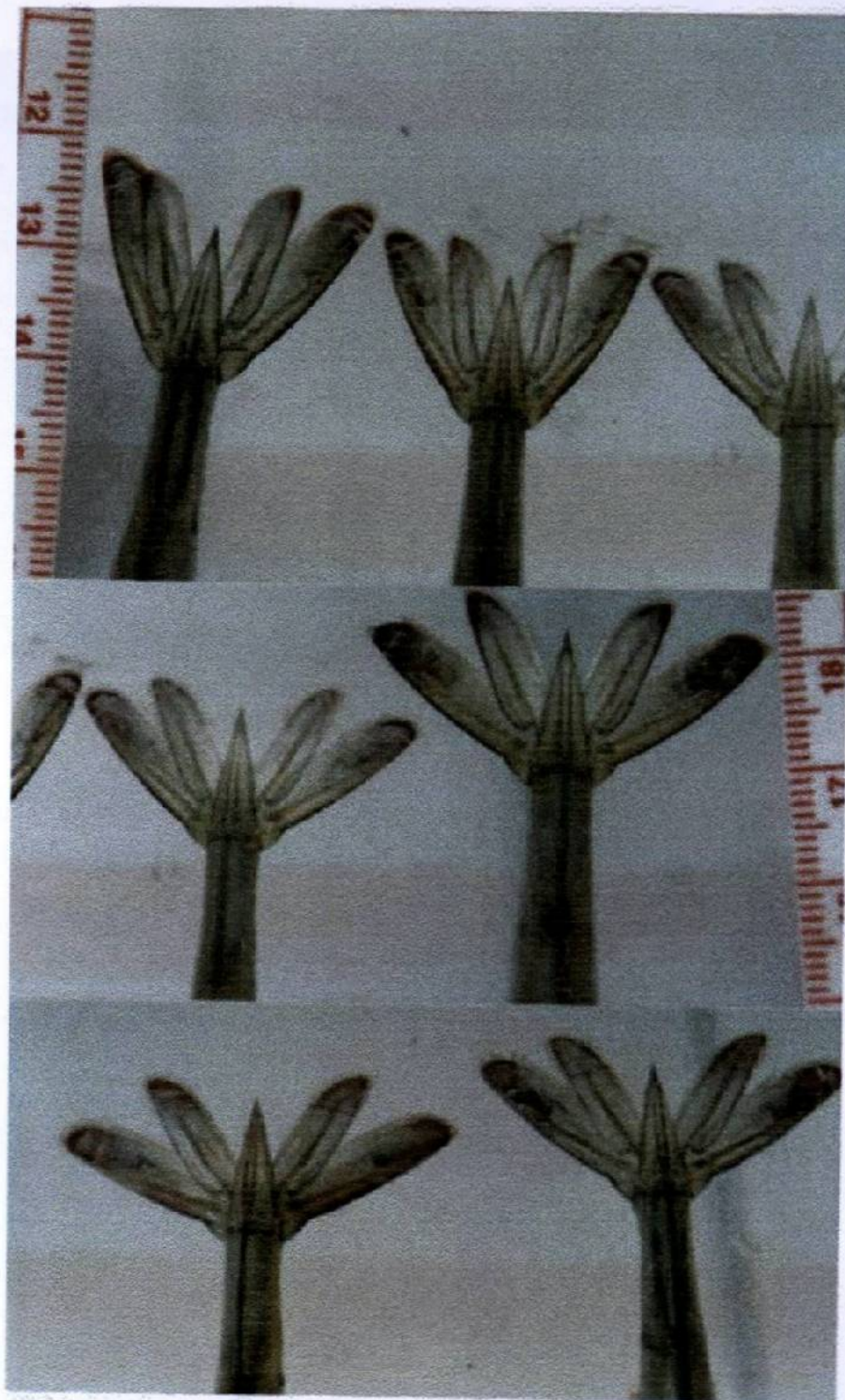


Figura 13.- Uropodos de siete juveniles de *L. vannamei* con expansión de cromatóforos. Fase aguda. En Vivo. Brote 1995.



Figura 14.- Vista lateral de *L. vannamei* con coloración rojiza en los urópodos . Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.



Figura 15.- Camarón juvenil de *L. vannamei* con la cola roja . Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.

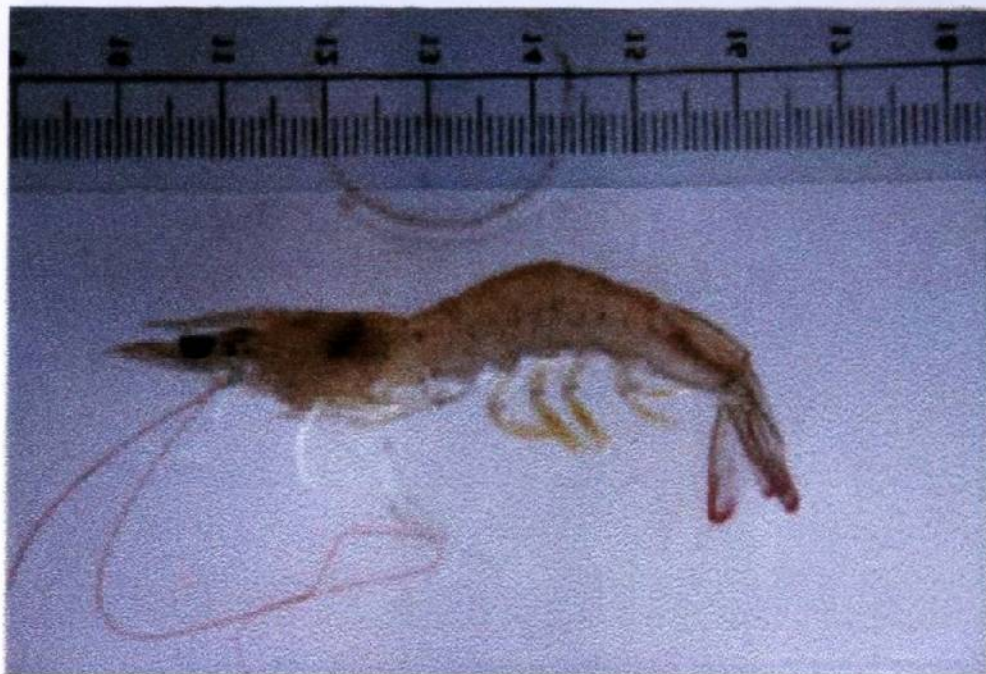


Figura 16.- *L. vannamei* con cola roja y expansión de cromatóforos en antenas y cuerpo. Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.

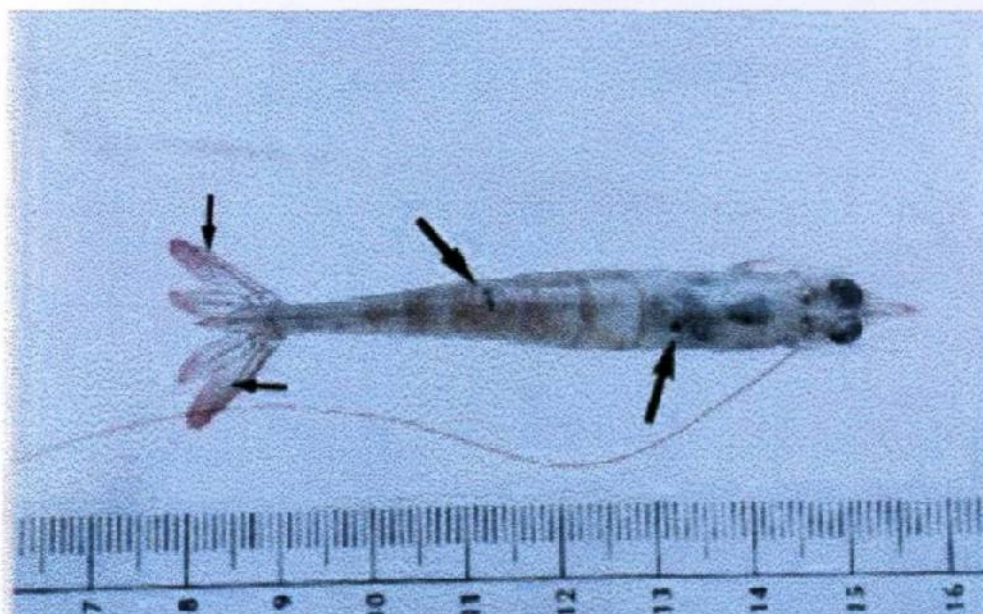


Figura 17.- Parte dorsal de *L. vannamei* con aspecto flácido y blanquecino y aparición de primeras lesiones en exoesqueleto, cola y antenas rojas. Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.

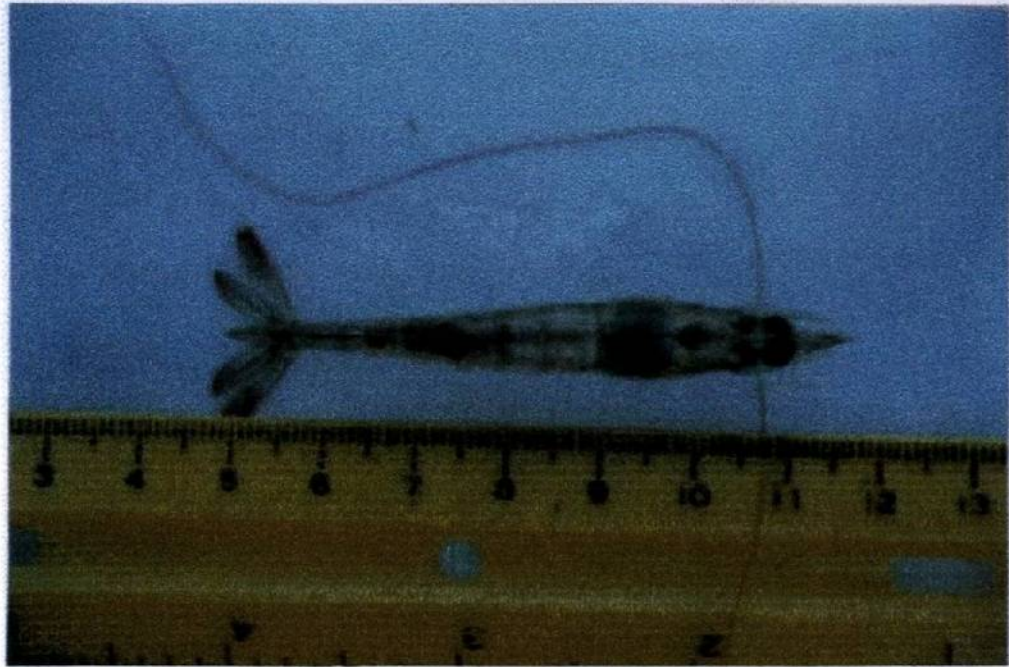


Figura 18.- Parte dorsal de *L. vannamei* con una lesión entre el tercer y cuarto segmento abdominal. Fase aguda. Brote 1999.

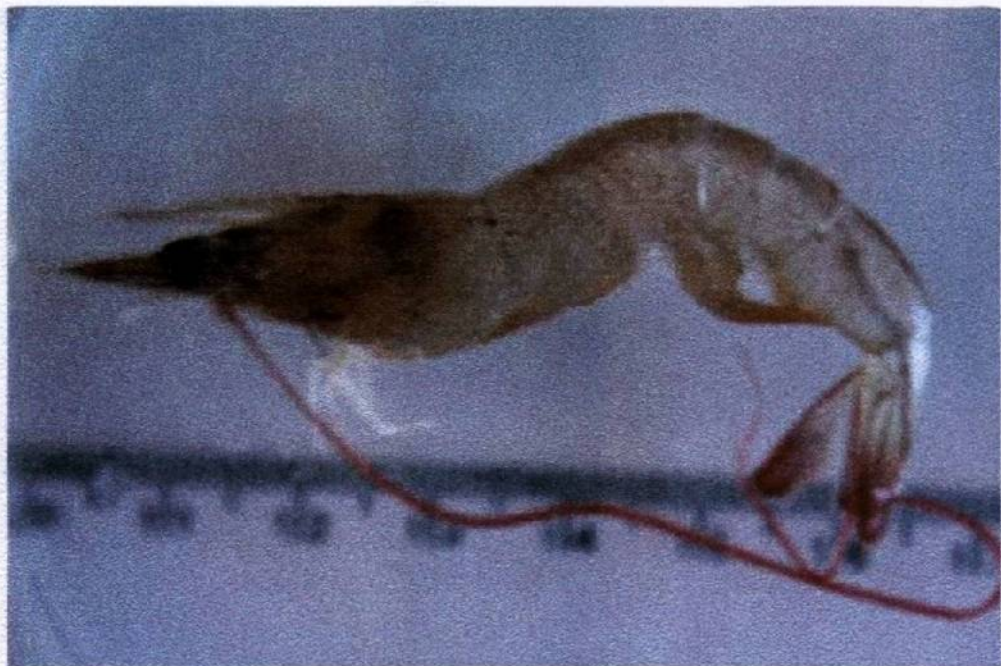


Figura 19.- Vista lateral de *L. vannamei* con expansión de cromatóforos en todo el cuerpo. Nótese el aspecto transparente del cuerpo. Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.



Figura 20.- Parte anterior de *L. vannamei* con expansión de cromatóforos en la cabeza y lesiones del exoesqueleto en el primero y segundo segmento abdominal. Fase aguda. En Vivo. Brote 1999.



Figura 21.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con epitelio cuticular con tejido normal y tejido conectivo adyacentes al exoesqueleto. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F).1,000X. Brote 1995.



Figura 22.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con separación leve de las capas del exoesqueleto. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.

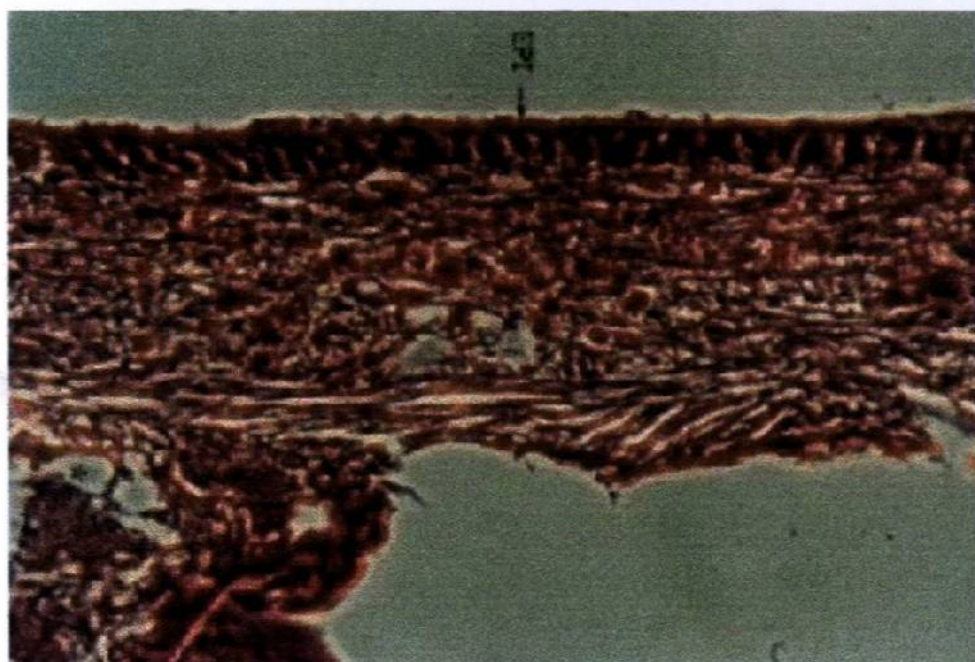


Figura 23.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con células del epitelio cuticular necrosadas. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F).1,000X. Brote 1995.

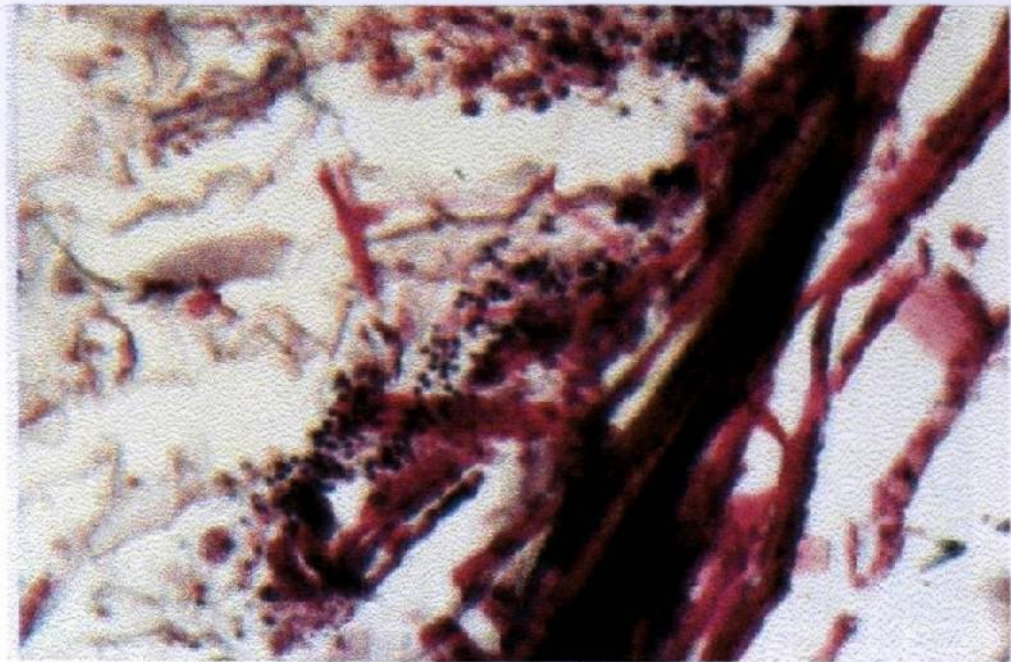


Figura 24.- Corte histológico de postlarvas de camarón *L. vannamei* con cuerpos esféricos citoplasmáticos en el epitelio cuticular. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F).1,000X. Brote 1995.

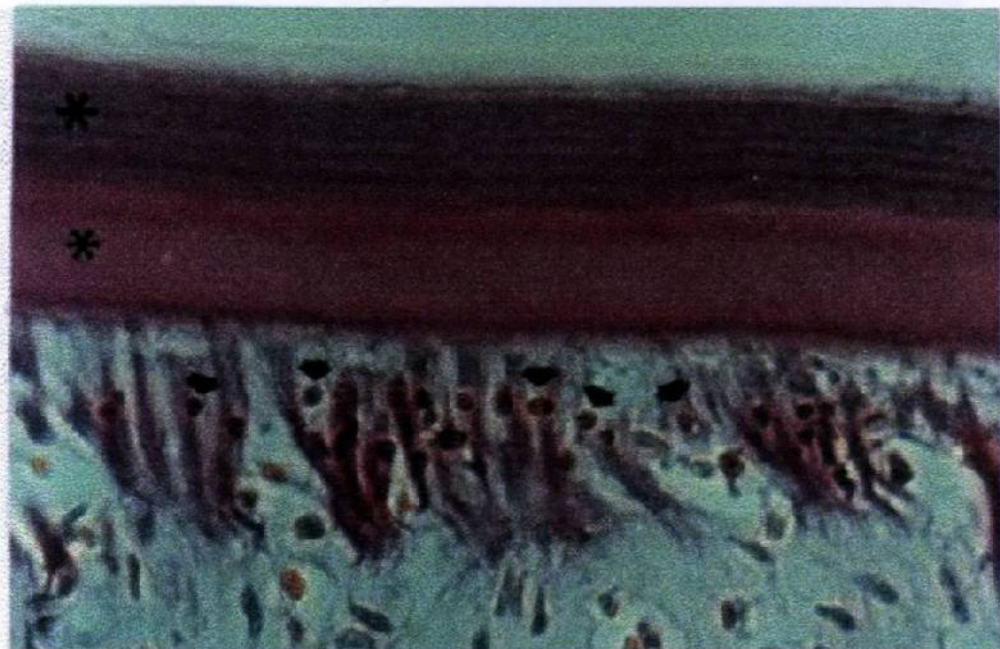


Figura 25.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con necrosis multifocal en el epitelio cuticular y núcleos picnóticos. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F).1,000X. Brote 1995.



Figura 26.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con picnosis nuclear en epitelio cuticular. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.

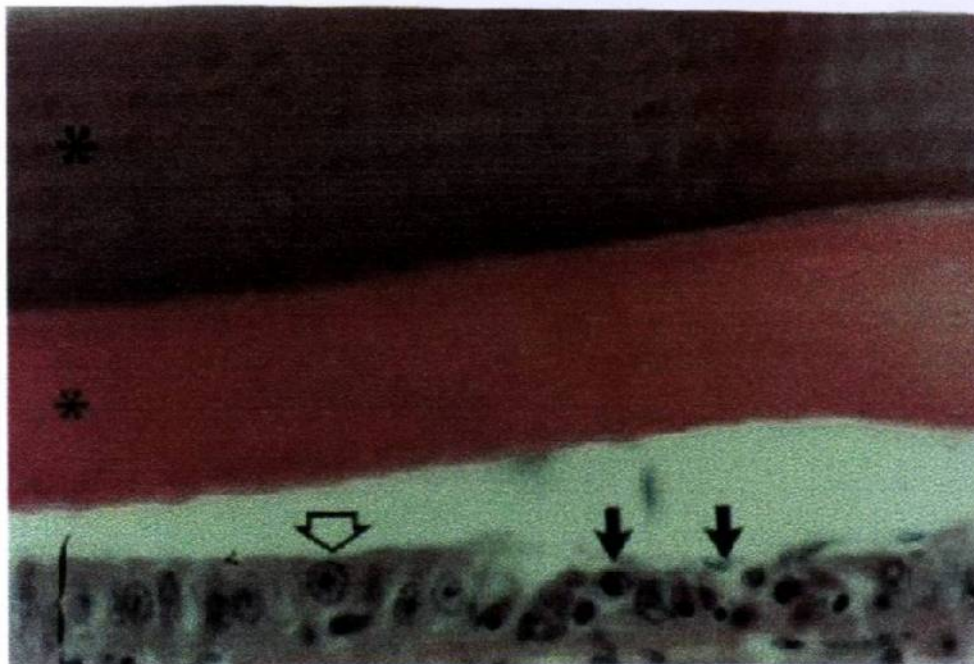


Figura 27.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con exocutícula y endocutícula unidas y epitelio epidérmico con necrosis multifocal, picnosis y eosinofilia citoplasmática (lado derecho). Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.



Figura 28.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con separación de la endocutícula y del epitelio epidérmico con hipertrofia celular y picnosis. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 2,000X. Brote 1995.

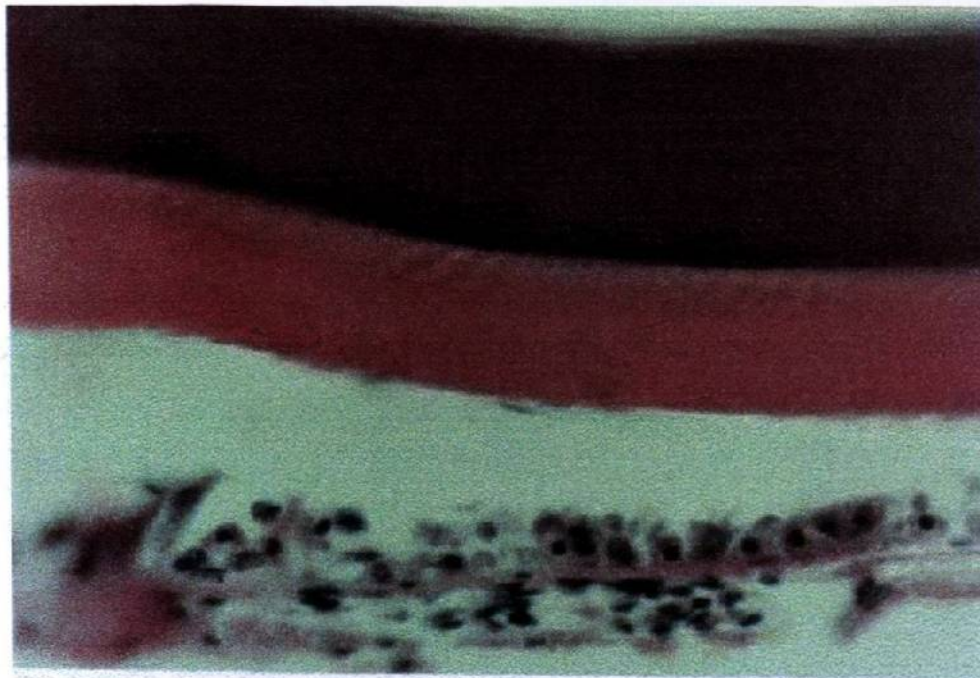


Figura 29.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* epitelio epidérmico con necrosis y picnosis nuclear. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.

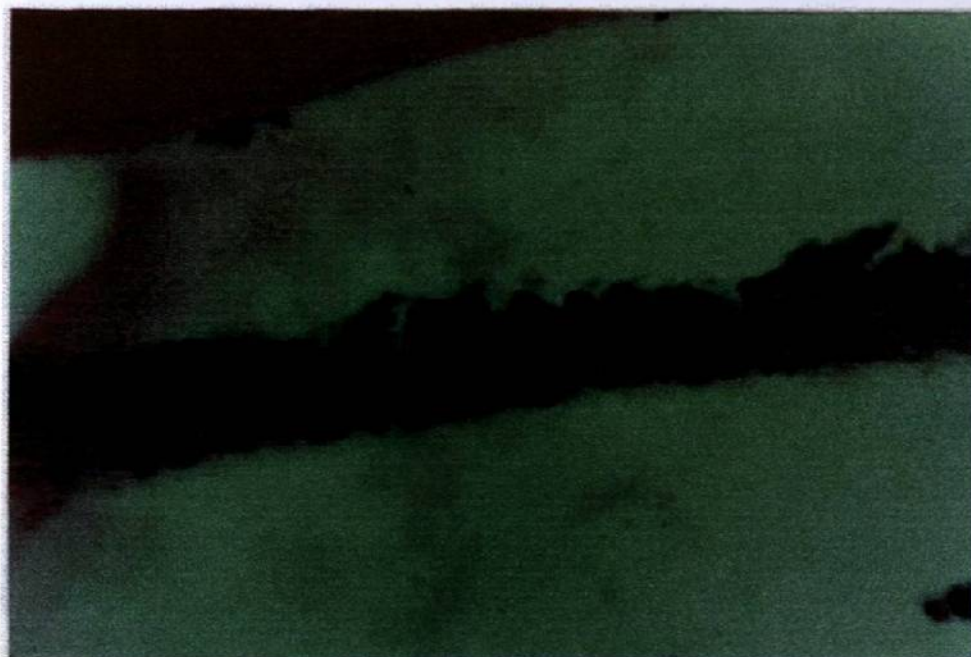


Figura 30.- Corte histológico a través de la epidermis de un camarón juvenil *L. vannamei*. Se observa picnosis nuclear. Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.

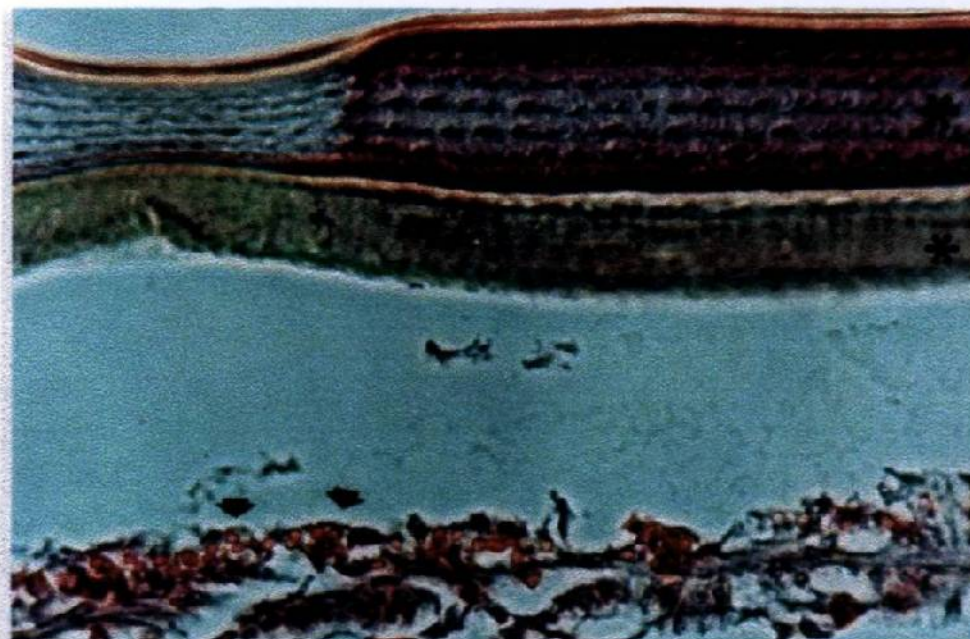


Figura 31.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con las tres capas del exoesqueleto dañadas, necrosis multifocal difusa del epitelio cuticular. Fase aguda. Tinción de Gram Brown & Brenn (B&B). 1,000X. Brote 1995.

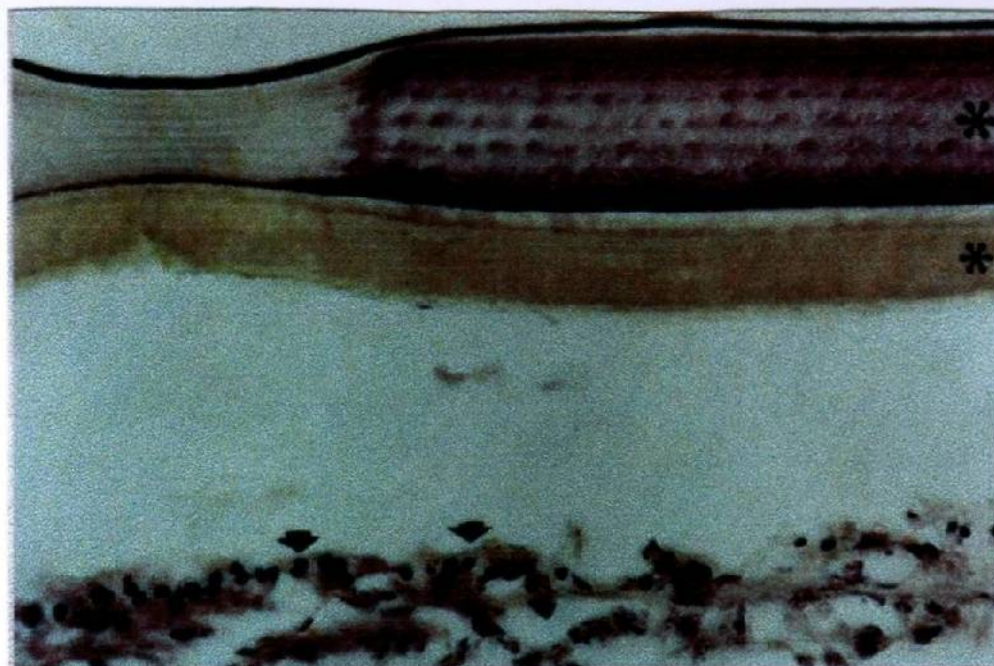


Figura 32.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con las tres capas del exoesqueleto dañadas, necrosis multifocal difusa del epitelio cuticular. Fase aguda. Tinción de Gram Brown & Brenn(B&B). 1,000X. Brote 1995.

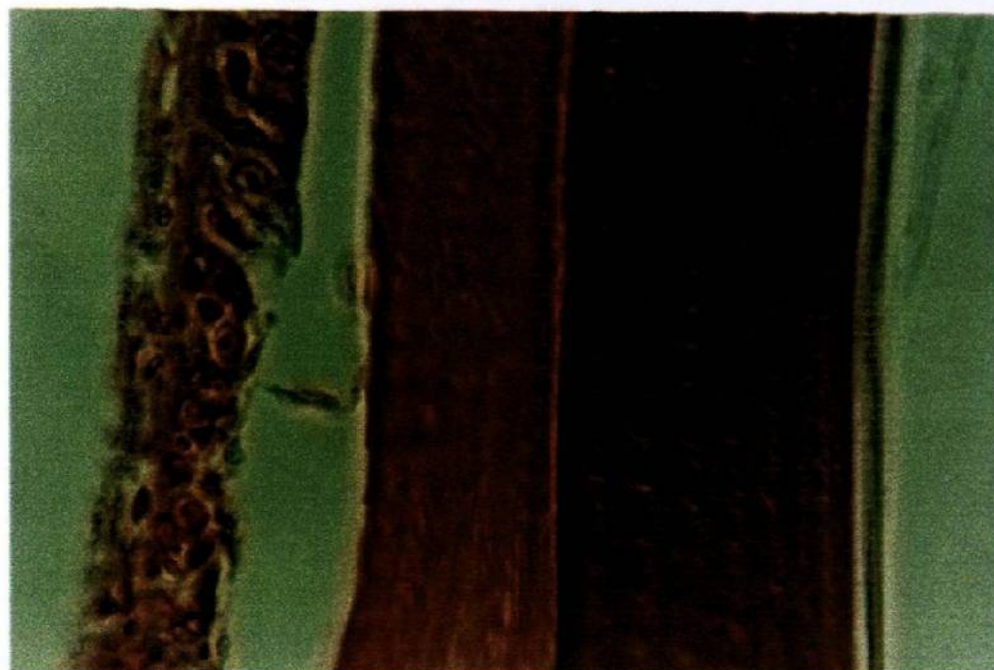


Figura 33.- Corte histológico de un camarón juvenil *L. vannamei* con presencia de lesión multifocal del epitelio cuticular Fase aguda. Teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina (H&E&F). 1,000X. Brote 1995.