

Evaluación de los parámetros biológicos, fisiológicos, inmunológicos y nutricionales en camarones *Litopenaeus stylirostris* afectados por vibriosis

C. Mugnier¹, C. Justou¹, H. Lemonnier¹, J. Patrois¹, D. Ansquer¹, C. Goarant², J.-R. Lecoz³

¹IFREMER-LEAD e ²Instituto Pastor de Nueva Caledonia, Nouméa – Nueva Caledonia

³IFREMER, Plouzané – Francia

Hugues.Lemonnier@ifremer.fr

cos e inmunológicos del camarón.

Evolución del “Síndrome de Verano” en la piscina afectada

Las primeras mortalidades se observaron alrededor del día 50 después de la siembra, cuando el peso promedio de los camarones rodeaba los seis gramos. El estudio confirmó que las larvas sembradas estaban libres de *V. nigripulchritudo* y se detectó su presencia por primera vez en un camarón muestreado 40 días después de la siembra. Después de ese día, la prevalencia de esta bacteria fue incrementando y se mantuvo entre 16.7% y 93.3% hasta el final del estudio. Los camarones moribundos y muertos colectados durante el muestreo estaban contaminados con *V. nigripulchritudo*, que también fue encontrado en el sedimento y agua de la piscina. Este patógeno fue también encontrado en la piscina control, pero no ocasionó eventos de mortalidad.

Introducción

En Nueva Caledonia, el cultivo del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* es una industria en desarrollo, con un estatus privilegiado de ser casi libre de virus. La especie domesticada es tolerante al virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética (IHHNV), único virus de importancia para el camarón presente en este país. Sin embargo, la industria se ve afectada por episodios de mortalidad, ya sea durante la época fría o entre estaciones (referidos como “Síndrome del 93”) o durante la temporada de verano (referidos como “Síndrome de Verano”). Estas dos patologías reducen la rentabilidad del cultivo y por lo tanto representan una de sus principales amenazas.

En ambos casos, las mortalidades están relacionadas con una septicemia resultado de la presencia de *Vibrio penaeicida* y *Vibrio nigripulchritudo*. Sin embargo, el origen de estas enfermedades no se puede explicar por la sola presencia de vibrios. En efecto, se puede encontrar a *V. penaeicida* en la hemolinfa de camarones aparentemente sanos sin ocasionar eventos de mortalidad. Del mismo modo, se puede detectar la presencia de *V. nigripulchritudo* en piscinas sin tener signos de enfermedad en los camarones o reportes de mortalidades anormales. Se sospecha que varios factores intervienen para producir la enfermedad, a través de interacciones en-

tre el ecosistema de cultivo, el camarón y los patógenos.

Para entender los mecanismos que afectan a la resistencia del camarón y que conducen a una mortalidad significativa, se diseñó un programa de monitoreo en dos camaroneras, una afectada por el “Síndrome de Verano” y otra sin presencia de enfermedades (camaronera control), que combinó estudios de patología, una evaluación de las condiciones físico-químicas del cultivo y una estimación de los parámetros fisiológi-



Vista aerea de una de las camaroneras muestreadas durante el estudio (Fuente: IFREMER / Yves Harache).

Las variables de calidad de agua monitoreadas fueron dentro de los rangos recomendados para el cultivo de camarón, sin presentar de manera individual valores generalmente considerados estresantes. Sin embargo, algunos parámetros presentaron grandes variabilidades y valores inestables, tales como en la concentración del oxígeno disuelto. Estos cambios fueron repentinos y en algunas ocasiones se presentaron en pocas horas. Se pudo asociar el inicio de las mortalidades con un cambio brusco en la comunidad fitoplanctónica.

Material y métodos

El monitoreo se llevó a cabo en dos camarónicas distintas, una afectada por el Síndrome de Verano y otra sin presencia de enfermedad, entre los días 32 y 80 de cultivo. Cada piscina muestreada tenía una superficie de tres hectáreas y fue sembrada el mismo día con postlarvas procedentes de un mismo lote, a una densidad de 28 larvas por metro cuadrado para la piscina afectada y de 35 larvas por metro cuadrado en la piscina control. Los camarones fueron alimentados con el mismo alimento comercial y cultivados de acuerdo a procedimientos estándares para esta especie.

Cada día el personal de las camarónicas revisaba las piscinas y contaba el número de camarones moribundos o muertos encontrados en las orillas de las piscinas. Cada dos días y de manera alterna, se muestreaba los camarones, justo antes de la primera alimentación, capturando un mínimo de 50 camarones con la ayuda de una atarraya en dos lugares diferentes de las piscinas (100 camarones en total por muestreo y piscina).

Los camarones capturados fueron pesados individualmente y su sexo y estadio de muda determinado. Además, se hizo una revisión del estado físico y de salud de los animales, observando la presencia o ausencia de lesiones necróticas en la parte externa del camarón, segmentos rojos en los apéndices como resultado de la expansión de los cromatóforos, alimento en el intestino, deformidad en el exoesqueleto o rostrum y opacidad del músculo abdominal. Los camarones moribundos o muertos pro-



***Litopenaeus stylirostris* en el fondo de una piscina de cultivo en Nueva Caledonia (Fuente: IFREMER / Hugues Lemonnier).**

venientes de la piscina con presencia del Síndrome de Verano fueron también revisados para determinar si la mortalidad correspondía a una parte específica de la población en cuanto a peso, sexo y estadio de muda.

Para el estudio de los parámetros fisiológicos e inmunológicos se seleccionaron a dos estadios de muda, el estadio de intermuda C y el estadio de premuda D2. De los 100 camarones capturados, los primeros 15 en la fase C y otros 15 en la fase D2 de muda fueron seleccionados para recoger su hemolinfa y hepatopáncreas.

Los siguientes parámetros fueron analizados en el plasma de los camarones muestreados, como indicadores fisiológicos de una respuesta al estrés: presión osmótica (su variación es un indicador no específico de la presencia de un estrés fisiológico), proteínas totales (sirven como una fuente importante de energía metabólica en los crustáceos), oxihemocianina (es la principal proteína en la hemolinfa y se utiliza en varias funciones como en el transporte del oxígeno, actividades enzimáticas, osmoregulación y efecto tampón), ión magnesio (desempeña un papel importante como co-factor en los sistemas enzimáticos y como modulador de la hemocianina), glucosa y lactato. Además de estos pa-

rámetros fisiológicos, se evaluó el número total de hemocitos como un indicador básico del estado inmunológico de los camarones, ya que los hemocitos están involucrados en la mayoría de los mecanismos inmunes en los crustáceos.

Debido a que el hepatopáncreas juega un papel clave en los procesos digestivos, también se evaluaron diversos parámetros relacionados con este órgano: índice hepatosomático y las concentraciones de glucosa y proteínas totales, así como la actividad de la tripsina.

Resultados y discusión

Supervivencia y crecimiento: No se observó mortalidad relacionada con la presencia de *V. nigripulchritudo* en la piscina control. Sin embargo, se produjo cierta mortalidad entre los días 45 y 49 de cultivo, coincidiendo con la presencia de medusas del género *Clytia* sp. en altas concentraciones (entre 15 y 20 individuos por litro) en el agua de la piscina. Después del día 49, su concentración bajó y la mortalidad se detuvo cuando la presencia de medusas se redujo a menos de 5 individuos por litro. A pesar de este episodio de mortalidad, la supervivencia final fue del 62%, nivel similar a lo que generalmente se reporta para esta camarónica.

En la piscina afectada por el Síndro-

me de Verano, se observó los primeros camarones muertos alrededor del día 50 de cultivo, cuando los animales tenían un peso promedio de 5.9 ± 0.1 gramos. Hubo dos picos de mortalidad, uno entre el día 54 y el día 64 de cultivo y otro alrededor del día 77. La supervivencia final en esta piscina fue del 27%.

Los resultados de los muestreos de pesos indican que la tasa final de crecimiento del camarón fue más alta en la piscina afectada por el Síndrome de Verano que en la piscina control. Las curvas de crecimiento se cruzaron en el día 54 de cultivo, cuando los camarones tenían un peso promedio de 6.9 gramos (Fig. 1). A lo largo del estudio, no se pudo observar diferencia entre el peso de los camarones moribundos y muertos y el peso de los camarones aparentemente sanos, con la excepción de los días 56, 66, 70 y 76, cuando los camarones muertos pesaban menos que los camarones aparentemente sanos.

En un estudio anterior sobre el Síndrome de Verano, ya se reportó un posible efecto negativo del rápido crecimiento de los camarones sobre su resistencia a una infección bacteriana y/o a un estrés ambiental. Una mayor tasa de crecimiento implica un incremento en la frecuencia de muda. La alta frecuencia de muda, no sólo aumenta el gasto energético para producir las exuvias, sino también cambia toda la estrategia de asignación de energía en el camarón. La energía adicional asignada al crecimiento y la muda sería desviada de otras funciones, como las reacciones fisiológicas necesarias para adaptarse a variaciones ambientales y responder a la presencia de patógenos. Sin embargo, la tasa de crecimiento fue también relativamente alta en la piscina control, lo que hace que no se pueda asumir que una alta tasa de crecimiento es un

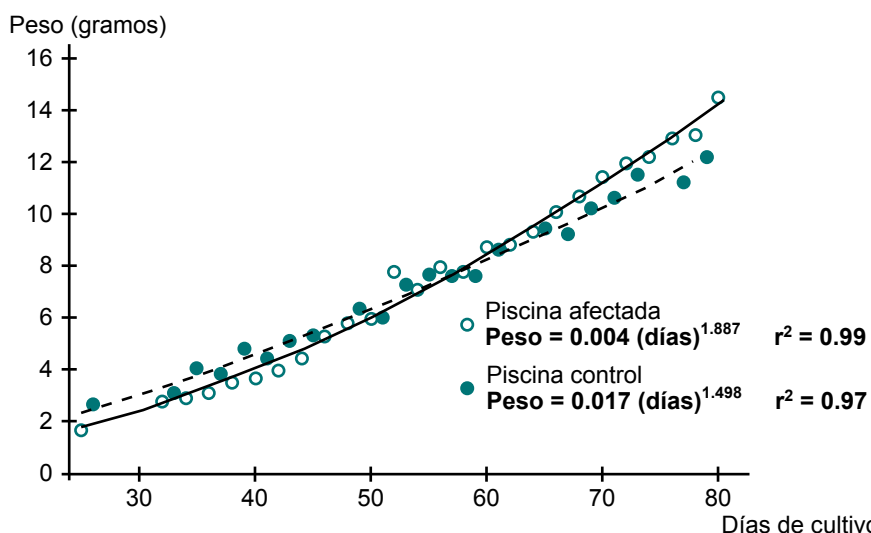


Figura 1: Evolución del peso promedio de los camarones en la camaronera afectada por el Síndrome de Verano (círculos abiertos) y en la camaronera control (círculos verdes).

factor causal de por sí del Síndrome de Verano, mas bien podría ser uno de los factores, entre otros, que promueve su aparición.

Estadios de muda: No hubo diferencias entre las dos camaroneras para los porcentajes de cada estadio de muda observado durante el estudio, tampoco hubo diferencias a analizar por separado, las muestras colectadas justo antes de observar las mortalidades (entre el día 32 y el día 49) o durante los eventos de mortalidad (entre el día 50 y el día 80 de cultivo). Además se pudo identificar el estadio de muda en el 89% de los camarones muertos o moribundos colectados en la piscina afectada por el Síndrome de Verano. Al compararlos con los camarones aparentemente sanos provenientes de la misma piscina, se observó que los estadios A (postmuda temprana) y D2 (premuda tardía) dominaron en los camarones afectados (Tabla 1) y esta diferencia fue particularmente notable los días 54, 56 y 58

(al inicio del evento de mortalidad) y los días 68 y 70. El estadio de muda menos afectado fue el de premuda D1.

Un estudio anterior publicado en 1997 demostró que *L. stylirostris* desafiado con vibrio en estadio de premuda D es más susceptible que en estadio de intermuda C. Sin embargo, un estudio publicado en el 2004 demostró que *Litopenaeus vannamei* infectado con una cepa patógena de *Vibrio alginolyticus* es más sensible a la infección en estadio de postmuda (A + B) que en estadio de premuda (D0 a D3). Resultados similares fueron obtenidos en un trabajo experimental preliminar con *L. stylirostris* infectados con *V. nigripulchritudo*. Además, *L. stylirostris* en estadio de premuda y postmuda es más sensible a condiciones de estrés, tales como una concentración baja en oxígeno y/o concentración alta de amoníaco. Es demasiado pronto para concluir que existe un efecto predominante de las condiciones ambientales que afectan a un estadio de

Tabla 1: Porcentajes de cada estadio de muda en los camarones moribundos y muertos y en los camarones aparentemente sanos provenientes de la piscina afectada por el Síndrome de Verano, entre los días 50 y 80 de cultivo. Promedio en una misma columna con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

	Estadio de muda					
	A	B	C	D0	D1	D2
Camarones aparentemente sanos	0.7% ^a	19.7% ^a	25.9% ^a	16.3% ^a	17.1% ^b	20.3% ^a
Camarones moribundos y muertos	5.3% ^b	19.9% ^a	29.2% ^a	12.3% ^a	4.8% ^a	28.5% ^b

Tabla 2: Porcentajes de los camarones muestreados con una imperfección física, en la piscina afectada por el Síndrome de Verano y en la piscina control. Promedio en una misma columna con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

	Deformidad (%)	Intestino vacío (%)	Lesiones necróticas (%)	Branquias naranjas (%)	Segmentos rojos (%)	Opacidad abdominal (%)
Piscina control	0.5% ^a	13.7% ^b	1.7% ^b	1.1% ^a	5.4% ^b	19.8% ^b
Piscina afectada	0.3% ^a	9.1% ^a	0.4% ^a	3.1% ^a	2.5% ^a	9.0% ^a

muda más que otro y ocasiona mortalidad de manera más importante que una infección con vibrio, pero esta hipótesis necesita ser evaluada.

Estado de salud de los camarones: Los camarones con deformidades representaron menos del 0.5% de la población muestreada en ambas camarónicas (Tabla 2). El número de camarones con un intestino vacío fue mayor en la piscina control (13.7%) en comparación con la piscina afectada por el Síndrome de Verano (9.1%), con presencia más alta los días 43-47, 55, 61-65 y 75. En cuanto a los camarones moribundos y muertos, todos presentaron un intestino vacío. Se observó presencia de lesiones necróticas en la superficie del cuerpo en menos del 1.7% de los camarones muestreados. Los camarones con branquias de color naranja eran tres veces más frecuentes en la piscina afectada por el Síndrome de Verano, sin embargo, esta diferencia no fue significativa. La mayoría de los camarones de la piscina control con segmentos rojos en los apéndices coincidieron con la presencia de medusas, especialmente después del día 65 de cultivo. Finalmente, el número de camarones que presentaron opacidad del músculo abdominal fue dos veces más alto en la piscina control (19.8%) que en la piscina afectada por el Síndrome de Verano (9.0%), con un pico entre el día 53 y el día 55 de cultivo cuando más del 60% de los camarones muestreados presentaron estas características.

Parámetros fisiológicos e inmunitarios: Los parámetros evaluados en la hemolinfa de los camarones muestreados fueron diferentes entre las dos piscinas, excepto para la presión osmótica. Los niveles de glucosa, magnesio, oxihemocianina, proteínas totales y hemocitos totales fueron más altos en

la piscina control, mientras que el lactato fue menor. En la piscina afectada por el Síndrome de Verano, se observó una reducción en los niveles de glucosa en los camarones libres de *V. nigripulchritudo* justo antes de observar las primeras mortalidades. Las diferencias observadas en los parámetros fisiológicos entre camarones infectados con *V. nigripulchritudo* (Vn+) y camarones libres de este patógeno (Vn-) sugieren que los camarones Vn+ estuvieron más estresados.

Los datos apuntan a un incremento en el catabolismo de los carbohidratos, como indica la hipoglucemia y producción concomitante de lactato como producto final de la glicólisis. El lactato es producido por el trabajo muscular (anaerobiosis funcional) y su exceso migra del músculo a la hemolinfa. Por otra parte, la disminución en la concentración total de proteínas y oxihemocianina es muy probablemente el resultado de la proteólisis, para satisfacer la creciente demanda metabólica causada por una situación estresante que implica reducción en la disponibilidad de energía.

El aumento en la demanda de oxígeno junto con el aumento en la demanda metabólica representan una situación

conflictiva para los camarones, ya que se necesita más oxígeno a nivel de los tejidos. Es razonable sugerir que la energía obtenida a partir del metabolismo anaeróbico podría compensar parcialmente este problema. Por lo tanto, el estrés tiene un efecto considerable y rápido sobre la función respiratoria del camarón. Durante eventos estresantes, un desajuste entre la demanda de oxígeno y el suministro de oxígeno podría contribuir a un incremento en el metabolismo anaeróbico de los camarones, lo que se observó durante este estudio con el deterioro en la capacidad de la hemolinfa para transportar oxígeno.

Análisis de las muestras de hepatopáncreas: El hepatopáncreas es el principal órgano de almacenamiento en el camarón y el índice hepatosomático (HSI) se utiliza como indicador del estado nutricional general en los crustáceos. Los valores obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los rangos reportados para *L. stylirostris*, pero más altos que los valores reportados para *L. vannamei*. Antes de la aparición de las mortalidades en la piscina afectada por el Síndrome de Verano, el HSI fue aproximadamente un 20% más alto en esta piscina que en la piscina control,

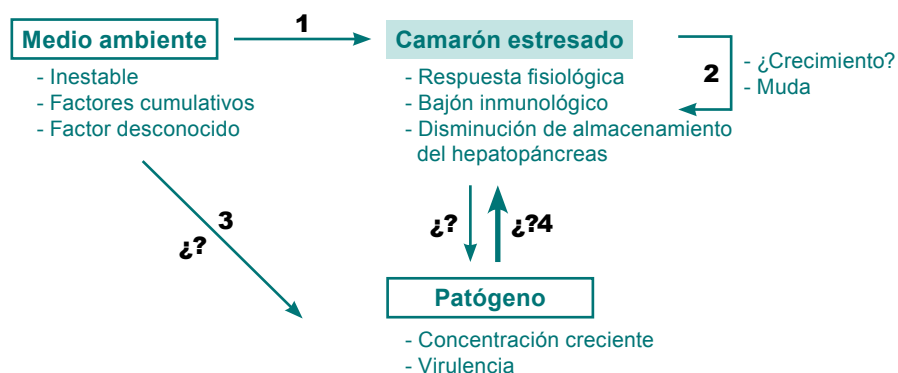


Figura 2: Representación esquemática del modelo conceptual del Síndrome de Verano.

lo que sugiere una mejor digestión y absorción de los alimentos. Sin embargo, unos pocos días antes del inicio de las mortalidades hasta el final del estudio, los valores para la concentración total de proteínas en el hepatopáncreas fueron inferiores en la piscina afectada por el Síndrome de Verano, lo que indica una disminución de la reserva de proteínas, fuente principal de energía en los crustáceos.

Modelo conceptual

La Figura 2 presenta un modelo conceptual de la enfermedad, elaborado a partir de información publicada en la literatura científica y los resultados de este estudio. Se postula que las mortalidades se producen en un medio inestable, caracterizado por cambios bruscos en la población de fitoplancton y la aparición de parámetros abióticos que presentan valores estresantes (pH, amoníaco, etc...). Tales condiciones, que pueden ocurrir en combinación con otro factor desencadenante desconocido, debilitan el estado fisiológico del camarón, incrementando así su susceptibilidad a infecciones bacterianas (Fig. 2, flecha 1). Se sospecha de un posible efecto negativo del crecimiento excesivamente rápido sobre la resistencia del camarón a una infección o estrés ambiental. El estadio de muda también podría desempeñar un papel importante en los brotes de la enfermedad (Fig. 2, flecha 2).

La ocurrencia de cepas patógenas de vibrio en la piscina de cultivo no conduce necesariamente a eventos de mortalidad, pero la presencia del agente patógeno en el sedimento de la piscina antes de observar las mortalidades sugiere que los sedimentos podrían servir de reservorio potencial para la infección. Se ha demostrado que *V. nigripulchritudo* es capaz de sobrevivir en el sedimento después de 18 semanas de secado y por lo tanto de pasar de un ciclo de cultivo al siguiente. Sin embargo, se necesitan de más estudios para determinar los factores ambientales que controlan la proliferación de este patógeno y su virulencia en las piscinas de cultivo (Fig. 3, flecha 3).

Los resultados presentados aquí sugieren que el camarón infectado con *V. nigripulchritudo* está más estresado que los camarones clasificados como saludables. Sin embargo, los datos no permitieron concluir si las respuestas fisiológicas e inmunológicas observadas en este estudio son el resultado de la infección con *V. nigripulchritudo*, de la presencia del patógeno en la hemolinfa de los camarones o de una susceptibilidad diferente de los camarones (Fig. 3, flecha 4). Los resultados sugieren que un ambiente inestable podría ser el factor clave que explique la presencia de camarones estresados y la proliferación del patógeno altamente virulento en las piscinas. La combinación de estas dos condiciones puede inducir eventos de mortalidad. ■

BIOBAC®



18 años
Sosteniendo la Acuicultura
en armonía con el medio ambiente.

Este artículo aparece en la Revista Aquaculture (Volumen 388-391, 15 de abril del 2013) y es reproducido con autorización de los autores. Para recibir una copia del artículo original, escriba al siguiente correo: revista@cna-ecuador.com

www.biobac.com.ec

