

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD MÉRIDA**

DEPARTAMENTO DE RECURSOS DEL MAR

**VARIACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA PARASITOFAUNA DE
CAMARONES SILVESTRES Y CULTIVADOS EN EL SUR DEL GOLFO DE
MEXICO**

Tesis que presenta:

Norma Angélica López Téllez

Para Obtener el Grado de

Doctora en Ciencias

En la Especialidad de

Ciencias Marinas

Director de Tesis

Dr. Víctor Manuel Vidal Martínez

Mérida, Yucatán, México

Agosto, 2020

COMITÉ DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Vidal Martínez (Director de Tesis)

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN)

Dra. Leopoldina Aguirre Macedo (Sinodal)

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN)

Dr. Miguel Ángel Olvera Novoa (Sinodal)

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN)

Dra. Rossana Rodríguez Canul (Sinodal)

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN)

Dr. Marco Linné Unzueta Bustamante (Sinodal Externo)

Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora (IAES)

DEDICATORIAS

Alfredo: Por todo lo que hemos compartido y logrado juntos, mil gracias.

Angie y Astrid: Porque son mi vida, las quiero.

A mis papas Víctor† y Alicia†: Por todo lo que me dieron y enseñaron, mil gracias, sé que volveremos a estar juntos.

A mi familia Grisi†, Vick, Lalo, Mavis, Licha, sobrin@s, cuñad@s, y ti@s: Porque siempre han estado ahí, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura a través de su Centro Regional de Investigación Pesquera de Lerma, Campeche por haberme concedido la beca mixta durante 2 años y 10 meses.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) y al Programa de Posgrado de Recursos del Mar por el apoyo brindado para la realización de mis estudios de Doctorado.

A mi Asesor, Dr. Víctor Manuel Vidal Martínez, por el apoyo, comentarios y críticas para el buen desarrollo académico durante mis estudios.

A los integrantes del Comité Tutorial: Dra. Rossana Rodríguez Canul, Dra. Ma. Leopoldina Aguirre Macedo, Dr. Miguel Olvera Novoa y al Dr. Marco Linné Unzueta Bustamante por la revisión y comentarios al manuscrito.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), por los fondos para becas.

Gerencia de Seguridad Industrial y Protección Ambiental RMNE, PEMEX exploración y producción por el apoyo financiero a través de los contratos no. 4120028470 y 4120038550, “Impactos antropogénicos sobre el recurso camarón en la Sonda de Campeche I y II”.

Al Grupo Pecis, S.A. de C. V., al Gerente del grupo Lic. Mario Martínez Labiada, al Gerente de la granja M.V.Z. Eduardo Figueras y al Gerente de producción Jorge Gómez, por su amable atención y por facilitarnos los organismos mensualmente a lo largo del muestreo. A los dueños y responsables de la granjas de los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche y Yucatán.

Al Dr. Juan Luis Martínez de la Universidad de Oviedo, España por su ayuda en la obtención de la micrografías electrónicas de barrido.

Al M. en C. Raúl Simá por ayudarme a la lectura de las placas histológicas.

Al M. en C. Luis Manuel Alonso Díaz, por ayudarme en el manejo de las técnicas de diagnóstico PCR.

Al Téc. Gregory Arjona por acompañarme a los muestreos y capacitación en la fijación de la muestras.

A mí querida amiga Lic. Carmen del Pilar Ehuan Nuñez por brindarme siempre tu apoyo y amistad incondicional.

A mis amigos y compañeros de los laboratorios de Parasitología, Inmunología y Biología Molecular y pesquería del CINVESTAV, Mérida, Ana Ma. Sánchez, Clara Vivas, Jorge Güemes, Isabel Jiménez, David González, Edgar Mendoza, Karla Román, Abril Rodríguez, Triny Sosa, Tere Hu, Francisco Puc, Jorge Sandoval, Yanis Cruz, Nelly Argáez, Idalia Herrera, Geovany Hernández, Roberto Zamora, Juan Pérez, Juan Pablo Ek, Luis Cetina, Juan Pablo Huchin y Roberto Castañeda por su participación parcial para el desarrollo de este trabajo.

A la Jefatura de recursos de Mar del CESTAV-Mérida Dr. Eucario Gasca† y a la coordinación de Recursos de Mar Dra. Silvia Salas Márquez, al Dr. Jorge Euan Ávila y a María Isabel Baqueiro Cabañas por su gran apoyo incondicional durante el tiempo para realizar mis estudios

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue determinar la presencia y variación espacio temporal de helmintos, protozoarios y virus así como los daños histológicos producidos por estos en los camarones silvestres *Penaeus duorarum* (rosado), *P. brasiliensis* (rojo), *P. aztecus* (café), *P. setiferus* (camarón blanco), *Xiphopenaeus kroyeri* (camarón siete barbas) y *Sicyonia brevirostris* (camarón de roca). El estudio de los camarones silvestres abarco la zona costera desde Veracruz hasta Quintana Roo y en alta mar (en la Sonda de Campeche) en el 2005. Los camarones cultivados *P. vannamei* (camarón blanco del Pacífico) se colectaron en una granja de Yucatán durante un ciclo anual (2001-2002). Y en 2013 en granjas de los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche y Yucatán, se registraron la prevalencia (P), intensidad promedio (IP), abundancia estimada (AE) y grado de infestación (GI) de los helmintos y protozoarios. Con respecto a los virus se determinó la presencia de Penstydensovirus (PstDV1), WSSV, YHV y TSV. La composición y variación de la helmintofauna de los camarones silvestres fue, el céstodo *Prochristianella hispida* (la especie más frecuente y abundante durante el año), en los tremátodos *Opecoeloides fimbriatus* y *Helicometrina nimia* hubo un incremento en intensidad promedio en épocas de lluvias. Los ectocomensales presentes fueron *Zoothamnium penaei* (el más frecuente y abundante), *Epistylis* sp., *Acineta tuberosa* y una gregarina no identificada (Gregarinidae gen. sp.). En general, la abundancia estimada de los protozoarios se observó incremento en la época de nortes. En cuanto al estudio de los ectocomensales en camarones cultivados *P. vannamei*, se registraron tres especies de protozoarios, *Epistylis* sp., *Zoothamnium penaei* y *Acineta tuberosa*. El ectocomensal más prevalente y persistente en el tiempo fue *Epistylis* sp., cuyos valores de prevalencia fueron significativamente mayores de abril a junio. Hubo una correlación positiva significativa con la temperatura. Finalmente, todos los camarones examinados no presentaron evidencia de infección por los virus WSSV, YHV y TSV. Sin embargo, se detectó el virus PstDV1 en los camarones *P. aztecus* y *X. kroyeri* en el puerto de Dos Bocas, Paraíso, Tabasco. En *P. aztecus* y *P. duorarum* en el puerto de Barra de dos bocas y en Barra Chiltepec, Paraíso, Tabasco, y en *P. vannamei* cultivados en dos granjas de Veracruz y cuatro granjas en Tabasco. Con respecto al muestreo anual en una granja de Yucatán durante diciembre 2001 a noviembre 2002 se detectó PstDV1 en siete de los 12 meses muestreados. Con respecto a la secuenciación del ADN obtenida de animales silvestres y de granja

colectados en el Golfo de México fueron relacionados con el virus PstDV1, que se describe en el Pacífico mexicano con una diferencia de 1 a 2 nucleótidos de la secuencia de ADN. Los resultados del presente estudio evidencian y soportan a PstDV1 como enzootico en los camarones silvestres de las aguas del Golfo de México.

ABSTRACT

The objective of this thesis is the spatial-temporal presence and variation of helminthes, protozoa and virus such as the histological damage produced by parasites in wild shrimps *Penaeus duorarum* (pink shrimp), *Penaeus brasiliensis* (red shrimp), *Penaeus brasiliensis*, *P. duorarum*, *P. aztecus* (brown shrimp), *Penaeus setiferus* (white shrimp), *Xiphopenaeus kroyeri* (seabob shrimp), and *Syciona brevirostris* (rock shrimp). The study of wild shrimp covers the coastal zone of the Gulf of Mexico (Veracruz to Quintana Roo) and from a deep-sea campaign (in Campeche Sound) in 2005. Individuals of *Penaeus vannamei* were collected from a shrimp farm in Yucatan during an annual cycle (2001-2002). Additionally in 2013, in farms in Veracruz, Tabasco, Campeche and Yucatan, the prevalence (P), average intensity (IP), estimated abundance (AE) and degree of infestation (GI) of helminths and protozoa were recorded. Regarding viruses, the probability of the presence of Penstydensovirus (PstDV1), WSSV, YHV y TSV was determined. The composition and variation of helminthic fauna was studied in wild shrimps. These was composed of the cestode *Prochristianella hispida* (the most frequent and abundant species throughout the year), in the trematodes *Opecoeloides fimbriatus* and *Helicometrina nimia*. There was an increase in the average intensity during the rainy season. Ectocomensals presents were *Zoothamnium penaei* (most frequent and abundant), *Epistylis* sp., *Acineta tuberosa* and an unidentified gregarine (Gregarinidae gen. sp.). During the “northern winds” season, an increase in the protozoa. As to the ectocomensals, study in farmed shrimps (*P. vannamei*) three protozoan species were recorded, *Epistylis* sp., *Zoothamnium penaei* and *Acineta tuberosa*. The most prevalent and persistent ectocomensal over time was *Epistylis* sp., the prevalence values of which were significantly higher from April to June. There was a significant positive correlation with temperature. Finally, no presence of virus WSSV, YHV and TSV was recorded. However, PstDV1 virus was detected in *P. aztecus*, and *X. kroyeri* shrimps coming from the port ‘Dos Bocas’, Paraíso, Tabasco. In *P. aztecus* and *P. duorarum* coming from ‘Barra de Dos Bocas’ and ‘Barra Chiltepec’, Paraíso, Tabasco and in *P. vannamei*, in two farms from Veracruz and four farms in Tabasco. Regarding the annual sampling on a Yucatán farm from December 2001 to November 2002 the PstDV1 was detected in 7 out of 12 months. The consensus DNA sequence obtained from farmed and wild shrimps collected from the Gulf of Mexico were closely related to PstDV1 virus isolates described in the Mexican Pacific Ocean with a slight

difference in 1 to 2 nucleotides in the DNA sequence. The results from the present study support evidence that PstDV1 has become enzootic in wild shrimps from the coastal waters of the Gulf of Mexico.

CONTENIDO

CAPÍTULO 1 Introducción general y Antecedentes	1
1.1 Introducción general	1
1.2 Antecedentes.....	3
1.2.1 Sistema Inmunologico del camarón	3
1.2.2. Virus IHHNV [syn= Penstlydensovirus (PstDV1)]	4
1.2.3. Virus de Síndrome de Taura (TSV).....	5
1.2.4 Virus del Síndrome de Mancha Blanca WSSV	6
1.2.5. Virus de la Cabeza amarilla YHV	8
1.2.6 Protozoarios	9
1.2.7 Helmintos	9
CAPÍTULO 2 Materiales y métodos generales	10
2.1 Introducción.....	10
2.2 Área de estudio	10
2.3 Períodos de muestreo.....	10
2.3.1 Camarón de zona costera:.....	12
2.3.2 Camarón de alta mar:.....	12
2.3.3 Camarón de granja:.....	12
2.4 Arte de pesca	13
2.5 Factores morfométricos e identificación taxonómica del camarón	147
2.6 Distribución de la muestras	19
2.7 Examen parasitológico	20
2.8 Tamaño de muestra.....	20
2.9 Estudio histológico	21
2.10 Parámetros de infección.....	21
2.10.1 Prevalencia (P):.....	21
2.10.2 Intensidad promedio (IP):.....	18
2.10.3 Abundancia estimada (AE):.....	22
2.10.4 Grado de infestación (GI):.....	22
CAPÍTULO 3 Helmintos parásitos y protozoarios ectocomensales de los camarones silvestres de la costa de Yucatán y Quintana Roo	20
3.1 Introducción.....	20
3.2 Hipótesis	22
3.3 Objetivos.....	22
3.4 Material y Métodos.....	23
3.4.1 Análisis estadístico	237
3.5 Resultados.....	24
3.5.1 Tamaño de la muestra.....	24
3.5.2 Registro de las especies de helmintos y protozoarios.....	24
3.5.3 Descripción de las infecciones de cada especie de parásitos y variación espacio-temporal	30
3.6 Discusión	43
CAPÍTULO 4 Variación Temporal de los protozoarios ectocomensales presentes en el camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> en cautiverio	44

4.1	Introducción.....	44
4.2	Hipótesis	50
4.3	Objetivos.....	50
4.4	Material y Método	51
4.5	Resultados.....	52
4.6	Discusión	61
CAPÍTULO 5: Estudio de la posible presencia de virus en camarones silvestres y cultivados en el sur del Golfo de México		62
5.1	Introducción.....	62
5.2	Hipótesis	65
5.3	Objetivos.....	65
5.4	Material y Método	65
5.5	Resultados.....	73
5.5.1	Reacción en Cadena de la Polimerasa	73
5.5.2	Secuenciación del ADN-PstDV1	79
5.5.3	Histología	82
5.6	Discusión	7983
CAPÍTULO 6 Discusión General.....		859
CAPÍTULO 7 Conclusiones.....		904
CAPÍTULO 8 Perspectivas.....		937
CAPÍTULO 9 Literatura citada.....		948

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Especies de camarones que se colectaron de acuerdo a la localidad y época de año. 12
- Tabla 2** Esquema donde se asignan valores numéricos cualitativos según el grado de infestación por protozoarios ectocomensales (tomado de Lightner, 1996). 19
- Tabla 3.** Registro de las especies de helmintos y protozoarios en camarones *Penaeus duorarum* y *Penaeus brasiliensis* por épocas del año. Celestún (Ce), Sisal (S), Chabihau (Ch), Ria Lagartos (RI) y Yalahau (Ya). Pp = pleópodos, Pl = plereiópodos, Exos = Sobre el Exoesqueleto, Co = corazón, Bra = Branquias, Cf = Cefalotórax, M = Músculo, Int = Intestino y H = hepatopáncreas. 25
- Tabla 4** Prevalencias (%), e Intensidad promedio (IP) de los helmintos en los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis* en Celestún, Sisal, Chabihau, Ria Lagartos, Yucatán y Yalahau (Quintana Roo) en tres épocas del año (N = nortes, S = secas y LL = lluvias), DS = desviación estandar, n = tamaño de la muestra, *P. hispida* = *Prochristianella hispida*, *O. fimbriatus* = *Opecoeloides fimbriatus*, *H. nimia* = *Helicometrina nimia*. 27
- Tabla 5** Prevalencias (%) y Abundancia estimada \pm Desviación estandar (AE \pm DS) de protozoarios encontrados en los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis* en Celestún, Sisal, Chabihau, Ria Lagartos (Yucatán) y Yalahau (Quintana Roo) en tres épocas del año (N = nortes, S = secas y LL = lluvias), DS = desviación estandar, n = tamaño de la muestra, *Z. Penaei* = *Zoothamnium penaei*, *A. tuberosa* = *Acineta tuberosa*. 31
- Tabla 6** Porcentaje de infección (%) de helmintos y protozoarios en cortes histológicos en órganos y estructuras de los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis*. Los datos corresponden a cuatro localidades en Yucatán y una en Quintana Roo y a tres diferentes épocas (N = nortes, S = secas y Ll = lluvias). n = número de camarones examinados por época. Ch = Chabihau. 34
- Tabla 7** Tallas de longitud cefalotóraxica (LC), peso (g) y sexo de los camarones blancos cultivados *Penaeus vannamei*. Valores superiores \pm Error Estandar. LC = longitud cefalotoráxica. 49
- Tabla 8** Prevalencias (P, %) y grado de infestación (GI) de ectocomensales registrados en diferentes órganos en el camarón blanco *Penaeus vannamei* entre diciembre de 2001 y noviembre de 2002. Pp= Pleópodos, Pe = Plereiópodos, Exo = Exoesqueleto y Bra = Branquias. 50
- Tabla 9** Abundancias Estimadas (AE) \pm Error Estándar (ES) de ectocomensales encontrados en el camarón blanco *Penaeus vannamei* durante diciembre de 2001 y noviembre de 2002. *Z. penaei*=*Zoothamnium penaei*, *A. tuberosa* = *Acineta tuberosa* 52
- Tabla 10** Resultados del ANOVA de dos vías entre épocas (nortes, secas, y lluvias) y por especies (*Zoothamnium penaei*, *Epistylis sp.* y *A. tuberosa*). 53
- Tabla 11** Regresión por pasos hacia adelante entre log base 10 (log + 1) de la abundancia estimada de *Epistylis sp.* y Tem = temperatura, Den = densidad de siembra y Oxi = concentración de oxígeno disuelto 55
- Tabla 12** Regresión por pasos hacia adelante entre log base 10 (log +1) de la abundancia estimada de *Zoothamnium penaei* y Tem = temperatura, Den = densidad de siembra y Oxi = concentración de oxígeno disuelto. 56

Tabla 13 Regresión por pasos hacia delante entre log base 10 (log + 1) de la abundancia estimada de <i>Acineta tuberosa</i> y factores fisicoquímicos. Tem = temperatura, Oxi = concentración de oxígeno disuelto y Sal = salinidad.	56
Tabla 14 Camarones silvestres capturados en la zona costera, en 22 localidades desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo. Localización Geográfica. Número de organismos fijados por especies	70
Tabla 15 Camarones silvestres capturados en la zona marina, en 22 localidades desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo. Localización Geográfica. Número de organismos fijados por especies.	72
Tabla 16 Localización geográfica de las granjas de camarón muestreados en los estados de Campeche, Tabasco, Veracruz y Yucatán.	73
Tabla 17 Cobertura y porcentaje de similitud de las secuencias de los estudios con los que se tiene homología en el banco genómico (GenBank™)	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localización de los sitios de muestreo zona costera, zona marina y granjas	11
Figura 2. Artes de pesca utilizados en el muestreo; a) triángulo camaronero, b) cuadro camaronero, c) buque oceanográfico y d) atarraya	13
Figura 3 Características morfométricas del camarón, indicando las estructuras taxonómicas utilizadas: a) camarón, b y c) cefalotórax no acanalados y acanalado, d) petásma, e) télico cerrado, f) télico abierto, g) rostro y antena antenular (tomado de Pérez-Farfante, 1988). Corroborado con los registros de WoRMS (2019)	15
Figura 4. Prevalencia (%) e intensidad promedio (IP) de las especies de helmintos de <i>Penaeus brasiliensis</i> . En Célestun, Chabihau, Ria Lagartos, Yucatán y Yalahau, Quintana Roo. Colores diferentes indican diferencia significativa en cuanto a época del año. Letras diferentes indican diferencias significativas en cuanto a localidad.	28
Figura 5 Prevalencia (%), Intensidad promedio (IP) y Abundancias estimada (AE) de las especies de protozoarios de <i>Penaeus brasiliensis</i> . Celestú, Chabihau, Ria Lagartos, Yucatán y Yalahau, Quintana Roo. Colores diferentes indican diferencia significativa en cuanto época del año. Letras diferentes indican diferencia significativa en cuanto a localidad.	32
Figura 6 Prevalencia (%), intensidad promedio (IP) y abundancia estimada (AE) de las especies de helmintos y protozoarios de <i>Penaeus duorarum</i> . Celestún y Sisal, Yucatán. Colores diferentes indican diferencias significativas en cuanto a épocas	35
Figura 7 <i>Prochristianella hispida</i> (Ph) en hepatopáncreas del camarón rojo <i>Penaeus brasiliensis</i>	36
Figura 8 <i>Zoothamnium penaei</i> (señalado con flecha) en las branquias del camarón rosado <i>Penaeus duorarum</i> 40x	37
Figura 9 Gregarinidae gen. sp. (señalado con flecha) en el intestino del camarón rojo <i>Penaeus brasiliensis</i> 25x	38
Figura 10 Microsporidio en el músculo del camarón rojo <i>Penaeus brasiliensis</i> 40x	38
Figura 11 Microscopía electrónica de barrido de <i>Epistylis sp.</i> presente en pereiópodos de camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i>	51
Figura 12 Microscopía electrónica de barrido de <i>Zoothamnium penaei</i> presente en los pleópodos del camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i>	51
Figura 13 Abundancia estimada mensual de <i>Zoothamnium penaei</i> y <i>Epistylis sp.</i> en el camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> cultivado en granja	53
Figura 14 Abundancia estimada de las tres especies de ectocomensales en cuanto a época del año presente en el camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> .	54
Figura 15 Abundancia estimada de ectocomensales en cuanto a especies presentes en el camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> .	55
Figura 16 Amplificación exponencial a partir de un fragmento de ácido desoxirribonucleico, molde tras una serie de ciclos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Modificado por Mas <i>et al.</i> 2001	67
Figura 17 Resultados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de Penstýldenovirus (PstDV1, 401 pb), mancha blanca (WSSV, 347 pb) y Control Interno (CI, 603 pb) de las muestras de los camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> cultivados. PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo y Ci=control interno, L1=diciembre 2001, L2=enero 2002, L3=marzo 2002, L4=abril 2002, L5=mayo 2002, L6=junio 2002, L7=julio 2002, L8=agosto 2002, L9=septiembre 2002, L10=octubre 2002, L11=noviembre 2002	74
Figura 18 Resultados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de los virus Penstýldenovirus (PstDV1, 401pb), mancha blanca (WSSV, 347pb) y Control interno (CI, 603 pb) de las muestras individuales de los camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> . PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo y Ci=control interno. L1 a L14 son los camarones individuales	75
Figura 19 Resultados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de los virus Penstýldenovirus (PstDV1, 401pb) y mancha blanca (WSSV, 347 pb) de las muestras de camarón blanco cultivado <i>Penaeus vannamei</i> . PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo CI=Control interno. L1 y L2 Positivos PstDV1y L3 positivos WSSV	76

Figura 20 Corte histológico del exoesqueleto sano del camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> (H y E, 25x). Endo=endocutícula, Epic=epicutícula, Epid epidermis, Eo=exoesqueleto y M=músculo	78
Figura 21 Corte histológico del cordón nervioso (CN) sano en el camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> cultivado (H y E, 40x)	79

CAPÍTULO 1 Introducción general y Antecedentes

1.1 Introducción general

La producción pesquera mundial del 2018 fue de 179 millones de toneladas de las cuales el 46% fue de origen acuícola con un valor comercial de 250.000 millones de dólares (FAO, 2020). En México, el recurso acuícola y pesquero más importante es el camarón, debido a su valor comercial, y el segundo en importancia en relación a su producción en toneladas que alcanzó un total de 227,929 toneladas de las cuales el 65% es de origen acuícola (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2017).

El desarrollo de la camaronicultura si bien ha sido continuo, ha presentado variaciones en las tasas de producción y es posible que estas sean debido a problemas de índole sanitario. De acuerdo con Peeler (2012), el crecimiento de la camaronicultura ha disminuido debido a emergencias causadas por numerosas enfermedades, las cuales se han diseminado rápidamente a través del mundo. Flegel (2012) menciona que de acuerdo con la Alianza Global de Acuicultura, (GOAL, por sus siglas en inglés) las pérdidas en el cultivo de camarón están dadas por un 60% en enfermedades virales, 20% por bacterianas y el otro 20% se le puede atribuir a una gran variedad de patógenos entre los que se encuentran helmintos y hongos, u asociadas a efectos principalmente ambientales (tóxicos o climáticos), nutricionales o congénitos. Las enfermedades de origen infeccioso en los camarones pueden originarse por bacterias, hongos, protozoarios, helmintos o virus y las enfermedades no infecciosas son las de tipo genético, medioambiental nutricional o funcional (Jiménez-Guzmán, 2008). Éstas modifican el funcionamiento normal del hospedero y pueden influir directamente en la susceptibilidad en depredación y reproducción. Al igual que afectan la supervivencia, provocan un bajo crecimiento e incluso un bajo factor de conversión alimenticia, el cual influye en el aumento en los costos de producción (Lafferty *et al.*, 2015).

En el cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*, se ha estimado que las pérdidas por enfermedades asociadas a virus oscila del 50 al 100% (Flegel, 2012; Lightner *et al.*, 2012). No obstante, la producción de camarón sigue aumentando a nivel mundial (FAO, 2020).

El cultivo de *P. vannamei* en el Golfo de México y mar Caribe, encierra un riesgo potencial. Circunstancias fuera del control humano, como fenómenos meteorológicos asociados a la ruptura de los bordes de un estanque, puede ocasionar que sea introducido a las lagunas costeras o al mar abierto. Esto deja abierta la posibilidad de que las poblaciones locales de camarones sufran alteraciones en sus relaciones de competencia, depredación, parasitismo y enfermedades principalmente virales. Este enfoque considera no solo los aspectos ecológicos, sino también los sociales y económicos de la sostenibilidad y el contexto de gobernanza en el que funcionan los sectores de la pesca y acuicultura (FAO, 2020).

Considerando lo anterior, la estructura de esta tesis se compone de tres capítulos. En el capítulo tres se desarrolló la variación espacio-temporal de los parásitos presentes en los camarones silvestres primero saber cuáles son los parásitos que infectan a los camarones silvestres de la Península de Yucatán y si estos se mantienen durante todo el año y todas las localidades o varían de acuerdo a las épocas. Esto para confirmar la presencia y abundancia de los helmintos y protozoarios.

En el capítulo cuatro se trabajó con la variación temporal de los protozoarios en los camarones cultivados. Nos enfocamos a registrar cuáles son los ectocomensales que infestan a los camarones cultivados y si existe una asociación de la abundancia estimada con los factores fisicoquímicos.

Finalmente en el capítulo cinco se desarrolló un estudio para la detección de virus PstDVI, WSSV, YHV y TSV en camarones silvestres y cultivados y si estos virus ocasionan daños histológicos a sus hospederos

1.2 Antecedentes

1.2.1 Sistema Inmunológico del camarón

En lo que se refiere a los mecanismos inmunológicos del camarón se puede abordar como una red altamente regulada que consiste en una serie de procesos de defensa que implica diversos tipos de células y factores, además de ser capaz de mantener un equilibrio en la homeostasis bajo condiciones fisiológicas normales. (Xu *et al.*, 2014). La primera barrera

defensiva del sistema inmunológico es el exoesqueleto que protege al organismo de posibles amenazas tanto de parásitos como de cambios físico químicos en su entorno (Holmbland y Söderhäll, 1999). También poseen una membrana quitinosa en su tracto digestivo que junto con la acidez y enzimas inactivan o que digieren agentes patógenos (Jiravanichpaisal *et al.*, 2006). La segunda barrera es la defensa por parte de la hemolinfa, se divide en dos partes. En primer lugar la parte humoral, esta surge cuando las células detectan un patógeno percibido por los receptores de la superficie celular, resaltando una activación desencadenada de enzimas tales como: coagulación, una amplia gama de péptidos antimicrobianos y la síntesis de melanina iniciada por el sistema pro-fenol oxidasa (proFO) (Flegel y Sritunyalucksana, 2011; Tassanakajon *et al.*, 2018) que activa reacciones enzimáticas tales como inhibidor de proteasas, proteínas de reconocimiento de lipoproteínas, y β -glucanos y α -2-macroglobulina (Hernández-López *et al.*, 2003). La segunda parte corresponde a los hemocitos que son los principales reservorios de las moléculas requeridas para la activación de ambas respuestas (Söderhäll y Cerenius, 1992; Söderhäll, 2016). Los hemocitos se dividen en granulados, su función principal es almacenar (Johanson *et al.*, 2000), semi-granulosos tienen baja actividad fagocitaria, pero cuenta con propiedades de citotóxicas y lisis celular. Son las primeras células en reaccionar a cuerpos extraños activando la desgranulación y liberando el sistema proFO y los hialinos (sin gránulos) implicados en fagocitosis y coagulación, son las células precursoras de los otros tipos de hemocitos (van de Braak *et al.*, 2002;) siendo la respuesta humoral y celular complementarias (Giulianini *et al.*, 2007).

1.2.2. Virus IHHNV [syn= Penstyldensovirus (PstDV1)]

De acuerdo con Lightner (1996), PstDV1, llegó a México por la introducción de camarones *P. monodon* infectados procedentes de Hawái en 1987. En el mismo año en una granja de La Paz Baja California, México se documentó el primer brote del virus PstDV1 (Galaviz-Silva y Molina-Garza, 2014). Lo que generó graves problemas epizoóticos en las granjas camaroneras de Sonora y Sinaloa.

El PstDV1 es un Virus de cadena sencilla del tipo ADN, su virión mide 22 nm diámetro y tiene 3.9 Kb de largo, tiene una forma icosaédrica sin cubierta, pertenece a la subfamilia Densovirinae y al género Penstyldensovirus (Venkatakrishnan *et al.*, 2013; Cotmore *et al.*,

2019). De éste se han identificado cuatro genotipos diferentes, el genotipo PstDV1-I continente Americano y Filipinas, el PstDV1-II, del Sureste de Asia, el PstDV1-III del este de África, y el PstDV1-IV de la región occidental Indo Pacífico, incluyendo Madagascar y Mauricio. Los dos primeros genotipos infectan a *P. stylirostris* y *P. monodon* (Tang y Lightner, 2006) en los cuales generan procesos infecciosos letales. No obstante, en el camarón blanco *P. vannamei*, no hay mortalidad, pero produce Síndrome de la Deformidad y del enanismo (RDS) (Bell y Lightner, 1984; Cuéllar-Anjel, 2013).

Los camarones que sobreviven a la fase aguda, lo sufren de manera crónica con RDS y lo transmiten de manera vertical (padres a hijos) y horizontal (entre organismos). Cuando la enfermedad surge, en los estanques de cría se puede observar como los signos más visibles la disminución en la tasa de consumo de alimento, el canibalismo, cambios en la conducta, nado errático y en la superficie y de manera interna la musculatura se encuentra opaca (Arun *et al.*, 2001; Cuéllar-Anjel, 2013). Según Lightner (2005) la estimación de las pérdidas por el virus PstDV1 en el continente americano en 1981 fue de 0.5 a 1 billón de dólares.

1.2.3. Virus de Síndrome de Taura (TSV)

Su nombre se debe al primer reporte de la enfermedad en los años 1991-1992, que fue hecho en las granjas cercanas al Río Taura en Ecuador, lugar de donde se diseminó rápidamente a todo el continente Americano (Lightner, 1995). En 1995, se documentó en el primer brote en México del Síndrome de Taura (TSV por sus siglas en inglés) en el estado de Sinaloa (Zarain-Herzberg y Ascencio-Valle, 2001).

TSV es un ARN virus, su virión mide 32 nm de diámetro, con una longitud de aproximadamente 9 kb, tiene forma de icosaedro sin envoltura, una sola cadena y la cápside está compuesta de tres proteínas estructurales principales (49, 36.8 y 23 kDa) y dos secundarias (51.5 y 52.5 kDa). Se replica en el citoplasma de las células hospedadoras (Cuéllar-Anjel, 2013a). Pertenecen a la familia Dicistroviridae y al género Aparavirus (Chen *et al.*, 2012). La especie más susceptible es el camarón blanco *P. vannamei* ocasionando hasta el 90% de mortalidad (Briggs *et al.*, 2005).

La enfermedad se presenta en camarones de 1 a 15 g durante el proceso de muda. Se puede presentar de forma aguda o crónica. Los síntomas de la fase aguda son: expansión de cromatóforos rojos y necrosis epitelial en apéndices, urópodos rojos, cutícula suave, intestino vacío. La fase crónica: pueden exhibir lesiones cuticulares y expansión de los cromatóforos rojos. Los ejemplares que sobreviven son portadores de por vida y pueden transmitirla de forma vertical y horizontal (Flegel, 2006).

Localmente la enfermedad se distribuyó rápidamente de granja en granja por vectores tales como insectos acuáticos (Hasson *et al.*, 1995; Lightner *et al.*, 1997) o por el excremento de aves marinas como gaviotas (Garza *et al.*, 1997 y Galaviz-Silva y Molina-Garza, 2014). Para el resto de América la principal forma de transmisión fue por la exportación de camarones infectados (para cultivo o reproductores), congelados para maquila o consumo humano (Overstreet *et al.*, 1997; Zarain-Herzberg y Ascencio-Valle, 2001; Lightner y Chen, 2002 y Zarain-Herzberg *et al.*, 2003).

El TSV, es una de las enfermedades más significativas para el cultivo del camarón en América, ya que su afectación al cultivo de *P. vannamei* se estimó en una pérdida entre 1.2 y 2 billones de dólares (Lightner, 1996; Hasson, 1998). Se estima que el TSV causó una mortalidades hasta del 80%, en las granjas de Nayarit y en Sonora (Galaviz, 1999).

1.2.4 Virus del Síndrome de Mancha Blanca WSSV

En 1993, en Taiwán se documentó por primera vez la enfermedad conocida con el nombre del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV). La enfermedad producida por este virus afectó el camarón tigre *P. monodon*, camarón japonés *Marsupenaeus japonicus*, chino blanco *Fenneropenaeus chinensis* y al langostino banana *F. merguensis* (Chu-Fang y Guang-Hsiung, 1998). En 1995 se reportó por primera vez en el continente Americano en el estado de Texas en Estados Unidos en noviembre de 1995 (Lightner, 1996).

Bray *et al.*, (2004), mencionan que llegó WSSV en 1999 a Panamá causó una mortalidad del 95% y mencionan que se introdujo a través de 18 contenedores con camarón congelado para maquila. También en ese mismo año se reportó su presencia en Estados Unidos, América

Central y Sudamérica (Lightner y Chen, 2002). Lightner (1996), considera que la diseminación principal de la enfermedad se ocasionó con la introducción de postlarvas para cultivo, por lo que no es raro que como en México la mayor parte de la producción acuícola de camarones se concentra en el noreste, haya ingresado justo por ahí también en 1999, ocasionando pérdidas de 80 al 100% a la industria camaronera (COESAES, 2012; 2014).

WSSV tiene más de 100 hospederos paratécnicos o vectores. Este es un virus que afecta a crustáceos que viven en aguas dulces, salobres y marinas y pueden infectarse también en poliquetos, bivalvos, rotíferos, larvas de insectos y hasta microalgas que pueden llegar a acumular elevadas cargas virales, actuando como vectores mecánicos (Liu *et al.*, 2007).

El WSSV es un virus de tipo ADN de doble cadena, de forma elíptica, viriones de 100 a 300 nm, presenta un apéndice similar a un flagelo, de la familia Nimaviridae, al género Whispovirus (Fauquet *et al.*, 2005; Hang-Ching *et al.*, 2019). Cuando la enfermedad se desarrolla causa mortalidades rápidas, y se observa síntomas de anorexia, letargo, reducción en la tasa de alimentación, decoloración del hepatopáncreas y manchas blancas de 0.5 a 2.00 mm de diámetro en la superficie del cefalotórax (Bondad *et al.*, 2001).

La mancha blanca es la enfermedad viral más importante por las pérdidas que ha generado en la camaronicultura, pues una vez que se manifiesta, puede causar mortalidades de hasta 100% entre tres a 10 días (Arun *et al.*, 2001).

En México durante los años 1999, 2005, 2010 y 2012 de forma recurrente se presentó la enfermedad de la mancha blanca, no obstante que la superficie de espejo de agua aumentó en México, la producción prácticamente se estancó, debido a que la productividad decayó llegando incluso en el 2002, a estar por debajo de las 0.6 ton/ha, hasta que en el 2005 se rebasó las 0.8 ton/ha (López *et al.*, 2019). Según Lightner (2005) la estimación de las pérdidas por el virus WSSV en el continente Americano en 1999 fue de 1 a 2 billones de dólares.

1.2.5. Virus de la Cabeza amarilla YHV

Entre 1986 a 1987, en Tailandia se registró por primera vez el síndrome que afecto a la industria del cultivo del camarón *P. monodon* por casi una década el YHV a la fecha se han registrado brotes en *P. vannamei*, en el langostino japonés *P. japonicus*, langostino banana *P. merguensis* y camarón azul *P. stylirostris*. La presencia de este virus se ha detectado en Indonesia, Malasia, China, India, Taiwán, Vietnam y Filipinas. Hasta el momento no se ha reportado brotes en América (Cuellar-Anjel, 2013c).

El YHV es un virus de tipo ARN de una cadena, so baciliformes y tiene envoltura 40 -60 nm, las envolturas están repletas de espículas prominentes que sobresalen 11nm de la superficie, de la familia Roniviridae, del género Okavirus (Cowley *et al.*, 2012). De éste se han identificado seis genotipos diferentes, el genotipo 1es el único capaz de causar la YHD. El genotipo 2 que está asociado a las branquias (GAV) tanto el genotipo 2 como los genotipos del 3 al 6 se ha registrado desde el este de África, Asia y Australia (Walker *et al.*, 2001)).

Este virus afecta principalmente a juveniles y subadultos de 5 a 15 g de peso. Este virus puede estar presente en poblaciones de manera latente y asintomática. Sin embargo, cuando la enfermedad se desarrolla se observan altas tasas de consumo de alimento, seguida por anorexia y finalmente muerte por inanición de hasta el 100% de la población. A simple vista los animales enfermos presentan una coloración amarillenta en el cefalotórax y apariencia pálida (Lightner, 1996; Cuellar-Anjel, 2013c)

1.2.6 Protozoarios

Las gregarinas son parásitos ampliamente distribuidos que generan infecciones internas. Las gregarinas son altamente patogénicas en el hospedero, y se encuentran principalmente en el intestino. Todos los camarones peneidos son hospederos potenciales de las gregarinas debido a sus hábitos alimenticios detritívoros. Estos parásitos reducen el crecimiento y elevan el factor de conversión alimenticia en camarones cultivados. Actualmente se conocen dos géneros de gregarinas en el camarón, *Nematopsis* y *Cephalolobus*. (Lightner, 1996; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

Otro grupo son los protozoarios ciliados como *Apostoma* y los ectocomensales la mayoría de éstos, viven en estado libre en el agua y no son patógenos verdaderos que generalmente se encuentran en la superficie de los camarones, en los apéndices locomotores, branquias o exoesqueleto. Se pueden presentar tanto en colonias como individuales. Los géneros más comunes son: *Zoothamnium*, *Epistylis* y *Lagenophrys*. Estos reducen el crecimiento, el consumo de alimento y la tolerancia a las concentraciones bajas de oxígeno. Sin embargo, se les considera graves en la fase larval ya que ocasionan altas mortalidades. Las lamelas de las branquias son más susceptibles para la colonización de los epicomensales y pueden cambiar la coloración de estas tornándose amarilla, café o negra (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Estos se pueden controlar aumentando la frecuencia de recambio de agua, colocando paletas en los estanques, disminuyendo la densidad de siembra y no sobrealimentando.

1.2.7 Helmintos

En el caso de los helmintos (tremátodos y céstodos), dentro del ciclo de vida del camarón estos actúan como hospederos intermediarios. La especie más común de tremátodos es *Opecoloides fimbriatus*, aunque se han encontrado trematodos de las familias Microphallidae y Echinostomatidae (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Los tremátodos se encuentran en formas larvaria (metacercarias) en los camarones generalmente enquistadas en varias partes del cuerpo o bajo el exoesqueleto (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

Los céstodos se alojan en la glándula digestiva (hepatopáncreas) y se encuentran presentes en el camarón en su forma larvaria ya que la forma adulta se encuentra en rayas. Las especies del género *Prochristianella* es la más común en los camarones silvestres (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

En el cefalotórax e intestino de los camarones generalmente se encuentran nematodos en estadio juvenil; las especies comunes son *Spirocamallanus pereirai*, *Ascaropsis* sp. e *Hysterthylacium* sp. (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

En el presente trabajo se caracteriza los macro y micro parásitos incluyendo virus, asociados a las poblaciones silvestres y cultivadas de camarones peneidos en una región del Golfo de

México. Consiste en un análisis espaciotemporal, de la variación de la riqueza de las especies y virus que parasitan a las poblaciones de camarones referidas.

En este sentido surgen distintas preguntas, una de ellas es:

¿Cuál es la variación espacial y temporal en la presencia de macro y micro paracitos incluyendo virus, asociados a las poblaciones silvestres y cultivadas de camarones peneidos, y que lesiones o daños generan en sus hospederos?

CAPÍTULO 2 Materiales y métodos generales

2.1 Introducción

En este capítulo se presentan los métodos de recolección de organismos usados como muestra, así como la ubicación física de su captura. En él se describe los materiales y métodos para la identificación taxonómica, cálculo de tamaño de muestra, examen parasitológico e histológico, utilizados.

2.2 Área de estudio

Se muestrearon tres zonas: costera, altamar y granjas camaroneras. Se capturaron especímenes silvestres de camarón café (*Penaeus aztecus*), rojo (*P. brasiliensis*), rosado (*P. duorarum*), blanco (*P. setiferus*), siete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) y roca (*Sicyonia brevirostris*), desde Alvarado, Ver. hasta Yalahau, Quintana Roo. Se tomaron muestras de camarón blanco del Pacífico (*P. vannamei*) producido en tres granjas del estado de Veracruz, 25 del estado de Tabasco, una del estado de Campeche y dos granjas del estado de Yucatán. Las características morfológicas que se consideraron para su identificación fueron las claves de Pérez-Farfante (1971); (Fig. 1).

2.3 Períodos de muestreo

En los camarones de Celestún, Ría Lagartos y Yalahau se tomó una muestra en cada época de año (lluvias, secas y nortes) mientras que los camarones capturados en Sisal y Chabihau se colectaron sólo en época de nortes, debido a que el humedal presenta dos fases: la seca y la húmeda, y solo es posible obtener camarones en esta última. El camarón blanco *P. vannamei* se colectó mensualmente de la granja en un muestreo anual y en las granjas de los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche y Yucatán fue en épocas de producción (Tabla 1).

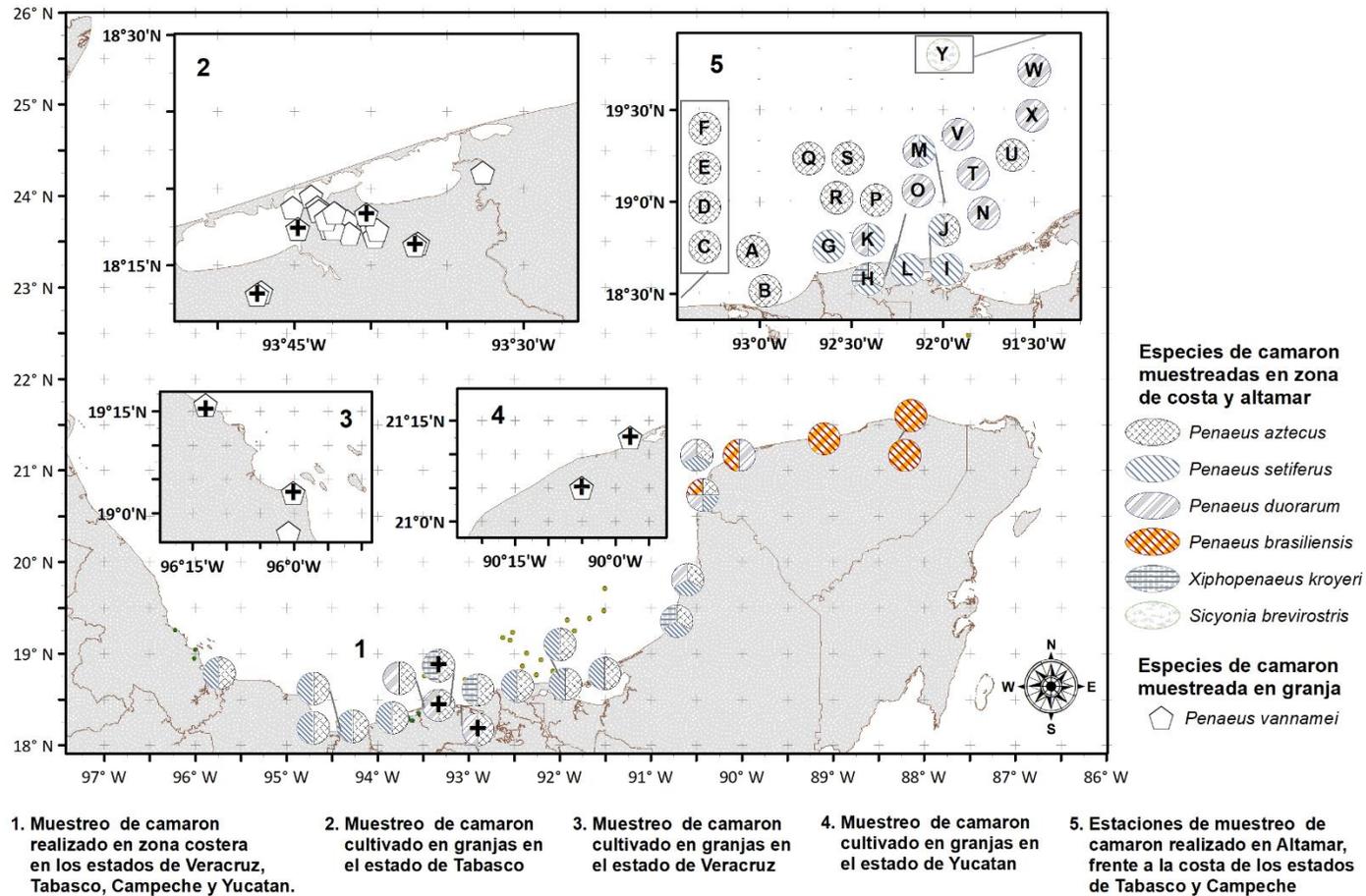


Figura 1. Localización de los sitios de muestreo zona costera, zona marina y granjas

Tabla 1. Especies de camarones que se colectaron de acuerdo a la localidad y época de año.

ÉPOCA	Yucatán			Q. Roo	
	CELESTÚN	SISAL	CHABIHAU	RIA LAGARTOS	YALAHAU
SECAS Mar-may 2002	<i>P. duorarum</i> <i>P. brasiliensis</i>	<i>P. vannamei</i>		<i>P. brasiliensis</i>	<i>P. brasiliensis</i>
LLUVIAS jun-oct 2002	<i>P. duorarum</i> <i>P. brasiliensis</i>	<i>P. vannamei</i>		<i>P. brasiliensis</i>	<i>P. brasiliensis</i>
NORTES nov-feb 2001 y 2002	<i>P. duorarum</i> <i>P. brasiliensis</i>	<i>P. duorarum</i> <i>P. vannamei</i>	<i>P. duorarum</i>	<i>P. brasiliensis</i>	<i>P. brasiliensis</i>

2.3.1 Camarón de zona costera: Los camarones silvestres se capturaron desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo en el mes de Mayo de 2015, en un muestreo puntual (Tabla 14 pág. 70). Para los camarones capturados en 2001-2002 de Celestún, Ría Lagartos y Yalahau se tomó una muestra en cada época del año (lluvias, secas y nortes). Los camarones capturados en Sisal y Chabihau se colectaron solo en época de nortes, debido a que el humedal presenta dos fases: la seca y la húmeda, y solo es posible obtener camarones en esta última (Tabla 1).

2.3.2 Camarón de alta mar: Los camarones silvestres fueron capturados en 25 estaciones de la Sonda de Campeche durante el mes de mayo 2015 en un muestreo puntual (Tabla 15 pág. 72).

2.3.3 Camarón de granja: El camarón blanco *P. vannamei* se capturó mensualmente en la granja de Yucatán durante un ciclo anual de diciembre 2001 a noviembre del 2002 (Tabla 1). Respecto a las tres granjas de Veracruz, 25 de Tabasco una de Campeche y una de Yucatán, se realizó un muestreo puntual durante 2013 (Tabla 16 pág. 73).

Se registraron en cada muestreo los siguientes parámetros fisicoquímicos: temperatura (°C), salinidad (‰) y oxígeno (mg/l), mediante una sonda multiparamétrica oxímetro marca YSI 55.

2.4 Arte de pesca

Los organismos silvestres de la zona costera se capturaron utilizando el “triángulo camaronero” (Fig. 2a), el cual consta de una red cónica de hilo alquitranado con 0.5 pulgadas de luz de malla, unida a tres maderos en forma de triángulo que a su vez forma la boca del arte. Cada vértice del triángulo lleva una cuerda, los cuales se unen a una distancia de 3 a 4 m. El triángulo se arrastró en tiempos no mayores de 15 minutos para las zonas de Celestún, Sisal y Chabihau. En la zona de Ría Lagartos y Yalahau el arte de pesca se conoce como “cuadro” (Fig. 2b). Este mide dos metros cuadrados, la red tiene un copo de 1.80 m, la luz de malla es de 0.5 pulgadas. Solo con este arte el arrastre se llevó a cabo en embarcaciones con motores fuera de borda. Este se arrastró durante 15 minutos máximo. Para los camarones de alta mar se utilizó el buque oceanográfico Justo Sierra (Fig. 2c), durante la campaña oceanográfica XCAMBO II que tuvo una duración de 30 días (8 de agosto al 6 de septiembre de 2005), con una red de camaronera “chango” de 5 m de largo por 5 m de ancho y 2.5 m de abertura de trabajo, con puertas de 0.5 x 0.4 m. La duración de cada lance fue de 10 min. Se realizaron de dos a tres lances por estación (Fig. 1). Los camarones de granja fueron capturados con atarraya de 2 m de diámetro y una luz de malla de 1 pulgada (Fig. 2d).



Figura 2. Artes de pesca utilizados en el muestreo; a) triángulo camaronero, b) cuadro camaronero, c) buque oceanográfico y d) atarraya

2.5 Factores morfométricos e identificación taxonómica del camarón

Los camarones se examinaron externamente bajo microscopio estereoscópico. Se obtuvo, la longitud total (LT), longitud cefalotóraxica (LC) y longitud rostral (LR) en centímetros, peso (g) y sexo. Para la identificación taxonómica de los camarones se tomaron como base las claves de Pérez-Farfante (1969, 1970, 1971 y 1978), corroborado con los registros de WoRMS (2019). Las mediciones se tomaron con un vernier.

Las características morfológicas y biométricas que se consideraron para la identificación se describen a continuación (Fig. 3): Los camarones rojos *P. brasiliensis* son organismos acanalados, con fórmula rostral ($LR/LC = 77.5\%$), y con forma del rostro recta. La posición del rostro con respecto al flagelo antenular fue larga, y la relación quilla/surco estrecha; la conformación del télico presentó placas laterales convergentes o con esa tendencia. El petasma careció de espinas distomarginales. El camarón rosado *P. duorarum* es acanalado y su fórmula rostral se considera como $LR/LC = 68.7\%$. La forma del rostro es recta, y la posición del rostro con respecto al flagelo antenular corta. La relación quilla/surco fue estrecha. Respecto a la conformación del télico, las placas laterales fueron divergentes o con esa tendencia y el petasma presentó espinas distomarginales, El camarón café *P. aztecus* es una especie acanalada la relación quilla/surco es estrecha. El petasma está en posición distal con dientes pequeños y el télico sus placas anterior y posterior son estrechos. El camarón *P. setiferus* es no acanalado, con télico abierto, costillas anterolaterales dobladas y petasma con posición distal del lóbulo atravesada por la costilla diagonal (Pérez-Farfante 1969, 1970, 1971, 1978). El camarón siete barbas *X. kroyeri* es una especie con rostro largo y muy alargado, presenta cinco dientes dorsales, sus dos pares de pereiópodos son largos, el petasma tienen un par distolateral y el télico es una placa ancha, corta y delgada en horizontal. Y por último *S. brevirostris* tienen tres dientes pos rostrales al nivel de la espina hepática, el petasma con proyección distal y sus lóbulos son cortos, y el télico con placas delgadas (Pérez-Farfante, 1988)

Como se mencionó anteriormente, el camarón blanco *P. vannamei* es una especie introducida para cultivo. Es un organismo no acanalado que tiene uno o dos dientes ventrales, un diente epigástrico, tético abierto y el petasma con un par distal libre (Pérez-Farfante, 1988).

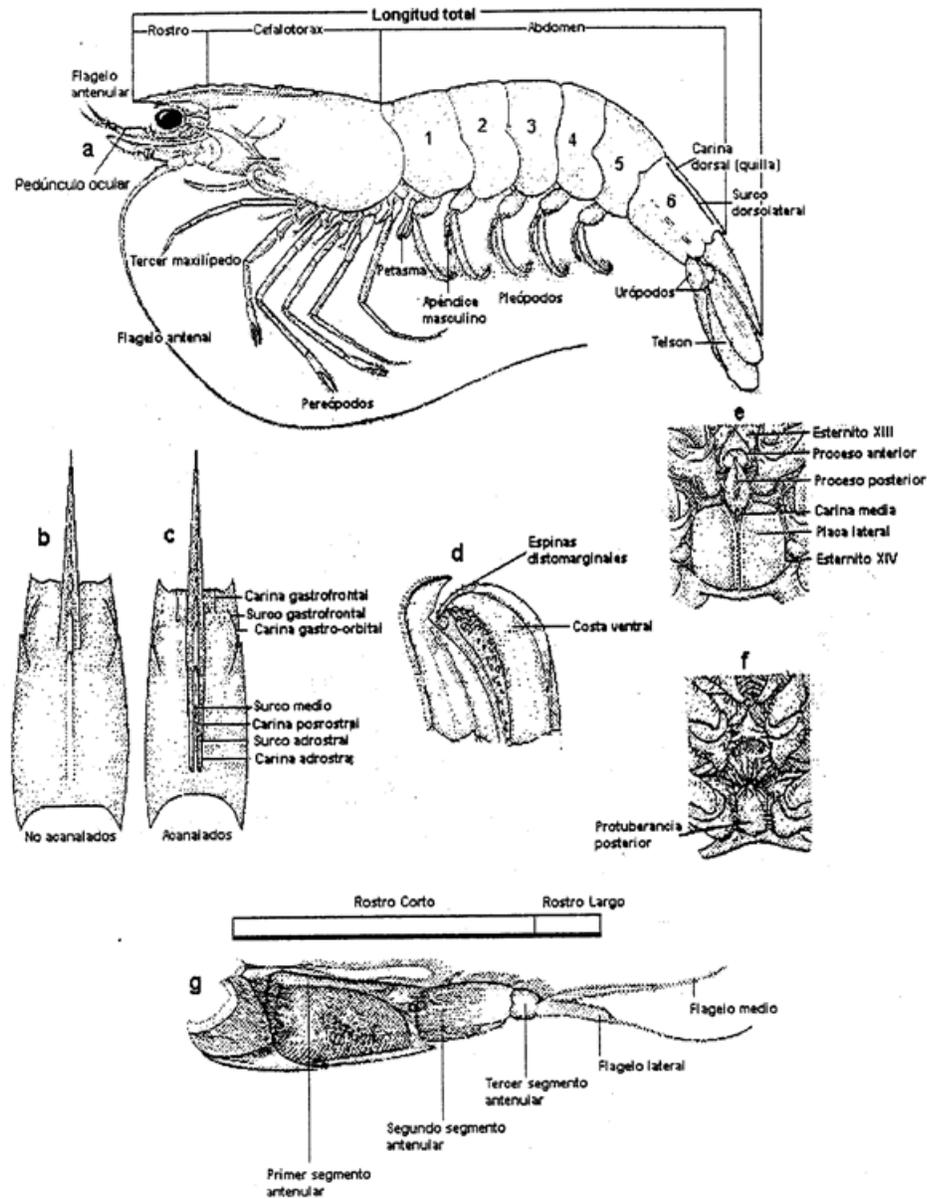


Figura 3. Características morfométricas del camarón, indicando las estructuras taxonómicas utilizadas: a) camarón, b y c) cefalotórax no acanalados y acanalado, d) petásma, e) tético cerrado, f) tético abierto, g) rostro y antena antenular (tomado de Pérez-Farfante, 1988). Corroborado con los registros de WoRMS (2019)

2.6 Distribución de la muestras

Para la escritura de los capítulos 3 y 4 se obtuvo un total de 90 camarones de cada especie por localidad y época (Tabla 1), los cuales se dividieron en tres grupos de 30 camarones cada uno. El primer grupo se utilizó para el análisis parasitológico en fresco, en busca de protozoarios parásitos, simbioses y helmintos. En el segundo grupo, a cada cefalotórax (branquias, corazón y hepatopáncreas) se le practicó un corte sagital; la mitad se fijó en alcohol 96° para análisis de ADN y la otra en solución ARN amigable (Tomado de Lightner, 1996). El último grupo se fijó en solución Davidson (Tomado de Drury y Walligton, 1980) durante 48h para posteriormente transferirlos en alcohol 70% para su procesamiento histológico (Lightner, 1996). Para el capítulo 5 los camarones silvestres de la zona costera y alta mar se fijaron individualmente por especie y por localidad (Tabla 14 y 15 Pág. 70 y 72 respectivamente). En el caso de los camarones de granja se tomaron muestras de hemolinfa de 30 organismos por lote introducido, y fueron fijados individualmente en alcohol 96°.

2.7 Examen parasitológico

A los camarones disectados, se les extrajeron los pleópodos, pereiópodos, exoesqueleto, hepatopáncreas, branquias, intestino y músculo. Todos estos órganos se colocaron en placas de vidrio (12 x 10 x 0.3 cm) marcados con cuadrículas de 1 x 1 cm, se les añadió solución salina al 0.70% (Tomado de Luna, 1965) y se observaron en microscopio estereoscópico.

La identificación de los parásitos se realizó por medio de preparaciones en fresco y permanentes. Los helmintos y protozoarios encontrados se fijaron en formalina al 4 %, posteriormente se tiñeron. Para los helmintos se utilizó la técnica de carmín (Tomado de Moravec, 1992) y en el caso de los protozoarios se utilizó la técnica de protargol (Tomado de Foissner, 1991), para resaltar las estructuras internas (Stephen y Nelsen, 1977; Aufderheide, 1982). Para microscopía electrónica de Barrido (MEB) se fijaron pequeños trozos de pleópodos con protozoarios en glutaraldehído al 2% en tampón Fosfato a pH 7.2 (Tomado de www.sigmaaldrich.com, 2002) (Foissner, 1991; Lightner, 1996).

2.8 Tamaño de muestra

Al finalizar el análisis en fresco del primer muestreo de cada localidad se utilizó la fórmula de tamaño de muestra de Des Clers (1994).

Dónde:

n = tamaño de muestra

$-\log(0.05) = 3$,

prev = prevalencia de la muestra

sens = sensibilidad del método

$$n = \frac{-\log(\alpha)}{prev \cdot sens}$$

2.9 Estudio histológico

Para el procesamiento histológico fueron necesarios cinco pasos: 1) Fijación, 2) Deshidratación y embebido, 3) Cortes, 4) Tinción e 5) Interpretación de las placas (Drury y Wallington, 1980). Las tinciones de Hematoxilina y Eosina, la reacción de Feulgen ADN y Eosin y Floxine fueron tomados de Luna, 1965.

2.10 Parámetros de infección

Los parámetros para describir los niveles de infección de protozoarios y helmintos fueron:

2.10.1 Prevalencia (P):

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

Dónde:

P = Prevalencia

C = Número de hospederos de una misma especie infectados por una especie particular de parásito o protozoario

N= Número de hospederos examinados (Bush *et al.*, 1997).

2.10.2 Intensidad promedio (IP):

$$IP = \frac{C}{N}$$

Dónde:

IP = Intensidad Promedio

C = Número total de individuos de una especie particular de parásito

N = número de hospederos de una especie infectados con tal especie de parásito (Bush *et al.*, 1997).

2.10.3 Abundancia estimada (AE):

AE = Número de protozoarios de una especie registrados en un campo (10x).

2.10.4 Grado de infestación (GI):

Se determinó para protozoarios (parásitos y ectocomensales) de acuerdo al esquema propuesto por Lightner (1996) (Tabla 2).

Para determinar posibles diferencias significativas en las prevalencias mensuales y por especie de camarón, se empleó un análisis de frecuencia aplicando la prueba de G heterogénea (Sokal y Rohlf, 1995).

Tabla 2. Esquema donde se asignan valores numéricos cualitativos según el grado de infestación por protozoarios ectocomensales (tomado de Lightner, 1996).

Valor numérico	Grado de infestación
0	<ul style="list-style-type: none">➤ No hay presencia de parásitos o ectocomensales➤ No hay lesiones
1	<ul style="list-style-type: none">➤ Patógeno, Parásito o ectocomensales presentes pero en número insignificante➤ Lesiones presentes pero enfermedad no significativa
2	<ul style="list-style-type: none">➤ Número bajo o moderado de patógenos, parásitos o ectocomensales➤ Lesiones altas
3	<ul style="list-style-type: none">➤ Moderado número de patógenos, parásitos o ectocomensales➤ Lesiones moderadas
4	<ul style="list-style-type: none">➤ Alto número de patógenos, parásitos o ectocomensales➤ Lesiones severas

CAPÍTULO 3 Helmintos parásitos y protozoarios ectocomensales de los camarones silvestres de la costa de Yucatán y Quintana Roo

3.1 Introducción

En México, el estudio de los helmintos y protozoarios se han enfocado principalmente a peces dulceacuícolas seguidos de peces marinos y comparativamente muy pocos a otros grupos de organismos tales como decápodos o moluscos (Moravec, 1992; Scholz *et al.*, 1996). Estos estudios principalmente se han desarrollado desde un punto de vista taxonómico y pocas son las investigaciones que se han realizado para conocer la composición y estructura temporal o espacial de las comunidades de parásitos (Argáez-García, 2003; Jiménez-García, 2003; Vidal-Martínez y Poulin, 2003). Los estudios más recientes acerca de parásitos y hospedero resaltan la importancia de los nemátodos como indicadores de la biología de los hospederos y su relación con el estrés de los ecosistemas incluso asociados al cambio climático en la Tierra (Vidal-Martínez *et al.* 2010; González-Zuarth *et al.* 2014).

Los registros de protozoarios y helmintos encontrados en camarones, ya sean cultivados o silvestres, no siempre se relacionan con la mala calidad del agua sino con exposición a aguas con estados infectivos, variaciones ambientales o estrés por densidad, entre otras causas. Sin embargo, cuando cambian las condiciones en las que se encuentra el hospedero, sean ambientales, nutricionales o reproductivas, se pueden presentar cambios cuantitativos en el número de individuos o en la riqueza de especies de los parásitos o ectocomensales de determinado hospedero con efectos potencialmente patogénicos (Jiménez-García, 2003; Olivas-Valdez *et al.*, 2010).

Los protozoarios registrados en el camarón se pueden agrupar en gregarinas que afectan al organismo internamente y los ectocomensales que se encuentran en la superficie del cuerpo y que no son consideradas dañinos a bajos niveles de infección (Lightner, 1996; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Los protozoarios son organismos unicelulares; los epicomensales viven en estado libre y no son patógenos verdaderos. Los ectocomensales, utilizan al camarón como un substrato, se adhieren en las branquias o en la superficie de los camarones, puede ocasionar problemas compitiendo por el oxígeno disuelto (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

En el caso de los helmintos (trematodos, céstodos y nemátodos), los camarones peneidos de las costas de Florida, han sido estudiados desde los años 50's, (Woodburn *et al.*, 1957; Hutton *et al.*, 1959; Kruse, 1959). Estos autores reportan nemátodos y tremátodos utilizando a los camarones como hospederos intermediarios. La especie más frecuente es el trematodo *Opecoeloides fimbriatus*, aunque se han encontrado también trematodos de las familias Microphallidae y Echinostomatidae (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Los trematodos son organismos pluricelulares pertenecientes al grupo de gusanos planos del phylum Platyhelminthes y se dividen en dos subclases Digenea y Aspidogastrea. Todos los trematodos son parásitos, algunos se encuentran a nivel intestinal, lo que les ha permitido explorar una amplia gama de hospederos acuáticos y terrestres. Se encuentran en los camarones en formas inmaduras llamadas metacercarias (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Estos parásitos pueden encontrarse en diversos órganos del camarón o bajo el exoesqueleto (Brock y Kevan, 1994; Vidal-Martínez *et al.*, 2002; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

Los céstodos del camarón, se alojan en la glándula digestiva (hepatopáncreas). Los géneros *Prochristianella* y *Renibulbus* son los más comunes en camarones silvestres (Brock y Kevan, 1994; Del Rio *et al.*, 2010; Valdés-Murillo, 2010; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Los céstodos son organismos pluricelulares pertenecientes al grupo de gusanos planos del phylum Platyhelminthes (Uribarren-Berrueta, 2016); todos estos son parásitos y en su estado adulto viven en el intestino de vertebrados, estos se encuentran en su fase larval en el hepatopáncreas del camarón usándolo como uno de los diferentes hospedero intermediarios (Uribarren-Berrueta, 2016). Mediante exámenes histológicos a camarones, se observó que *P. hispida* ocasiona crecimiento de tejido conectivo alrededor del cestodo (Vidal-Martínez *et al.*, 2002). Chávez-Sánchez *et al.* (2002) mencionan que encontrar más de 15 cestodos por campo (40X) con lesiones o destrucción severa.

En lo referente a las especies de nematodos, a la fecha se han registrado *Spirocamallanus pereirai*, *Ascaropsis* sp. e *Hysterothylacium* sp., siendo la más común esta última. Sus hábitats en el camarón son el cefalotórax e intestino. En el caso de *Hysterothylacium* sp un

pez tipo “pejesapo” ingiere al camarón y el nemátodo se desarrolla hasta hacerse adulto en el intestino del pez (Brock y Kevan, 1994; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

En el estado de Yucatán solo se ha realizado un estudio donde mencionan la prevalencia de parásitos y simbioses de tres especies de camarón silvestre (*P. aztecus*, *P. duorarum* y *P. brasiliensis*) y un especie de camarón cultivado (*P. vannamei*). Vidal-Martínez *et al.*, (2002) encontraron los protozoarios epibiontes *Apiosoma* sp., *Epistylis* sp., *Zoothamnium penaei*, y el microsporidio *Agmasoma penaei*, en los camarones cultivados en Sisal. En los camarones silvestres se encontraron larvas de céstodos *Prochristianella hispida*, los trematodos *Gymnophallidae* gen. sp. y *Opecoeloides fimbriatus* así como al nematodo *Hysterothylacium* sp. El artrópodo *Probopyrus pandalicola* se registró en los camarones palemónidos *Palaemonetes pugio*. Valdés-Murillo (2010), encontró en camarón café *P. aztecus* muestreado en la Laguna de la Mata, Ver., el céstodo *P. hispida* como único parasito teniendo mayor prevalencia en las épocas de secas y nortes.

Claramente existe poca información sobre la variación temporal de los parámetros de infección de helmintos y protozoarios en invertebrados, y en especial en camarones silvestres en Yucatán.

3.2 Hipótesis

La presencia de ectocomensales en camarones silvestres, es igual durante las diferentes épocas del año a lo largo de la costa de Yucatán.

3.3 Objetivos

- a) Conocer que especies de ectocomensal infestan a los camarones silvestres *P. brasiliensis* y *P. duorarum* en la Península de Yucatán.
- b) Determinar si existe variación espacial y temporal de los parásitos con respecto a los parámetros epidemiológicos (prevalencia, abundancia estimada y grado de infestación) en los camarones *P. brasiliensis* y *P. duorarum*.

- c) Identificar los daños histológicos causados por estas parasitosis.

3.4 Material y Métodos

En los camarones de Celestún, Ría Lagartos y Yalahau se obtuvo una muestra en cada época del año (lluvias, secas y nortes) mientras que los camarones capturados en Sisal y Chabihau fueron muestreados solo en época de nortes. Se utilizaron 60 camarones de cada especie por muestreo de los 90 especímenes detallados en el capítulo anterior. Estos camarones se distribuyeron de la siguiente manera: 1) 30 camarones para el análisis parasitológico en fresco en busca de protozoarios y helmintos. 2) 30 organismos fijados en solución Davidson en un lapso de 48h. Posteriormente se pasaron a alcohol 70%, y de estos se obtuvieron los cortes histológicos (Lightner, 1996). Los procesos de revisión, fijación y tinción se explicaron en el capítulo 2.

Se utilizó la fórmula de Des Clers (1994) para determinar si el tamaño de muestra fue el adecuado para presentar las poblaciones de cada especie de parásito o protozoario. Todas las medidas morfo métricas de los helmintos se expresaron en μm , a menos que se señale específicamente otra unidad.

3.4.1 Análisis estadístico

La prevalencia, intensidad promedio y abundancia estimada para cada especie de parásito y protozoarios se obtuvieron de acuerdo con lo detallado en el capítulo 2. Para determinar posibles diferencias significativas en las prevalencias mensuales y por especie se empleó la prueba de heterogeneidad de G con una $P < 0.05$ (Sokal y Rohlf, 1995).

Una vez obtenida la intensidad promedio y abundancia estimada, fue necesario hacer una conversión de logaritmo base 10 del número de parásitos más 2, para cumplir los supuestos de normalidad. En el caso de céstodos en *P. hispida* se cumplieron los supuestos de homogeneidad y normalidad y por tanto fue posible aplicar ANOVA paramétrico de una vía.

En el resto de los casos no se cumplieron estos supuestos, por lo que se aplicó un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) por especie de parásito y hospedero. Lo anterior se llevó a cabo para determinar posibles diferencias significativas entre las distintas localidades muestreadas y durante las tres épocas del año. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa STATISTICA versión 9.

3.5 Resultados

3.5.1 Tamaño de la muestra

Se utilizó la fórmula de Des Clers, (1994), como se describe en el capítulo 2 y el tamaño de muestra fue el adecuado.

3.5.2 Registro de las especies de helmintos y protozoarios.

El registro taxonómico de parásitos de los camarones silvestres en las zonas de Celestún, Sisal, Chabihau, Ría Lagartos Yucatán y Yalahau en Quintana Roo comprendió ocho taxas. Cuatro taxa en *P. duorarum* y ocho taxas en *P. brasiliensis* (Tabla 3). De éstas, tres especies corresponden a helmintos que utilizan al camarón como hospedero intermediario: dos son digéneos de la familia Opecoelidae y un céstodo de la familia Eutetrarchynhidae. Con respecto a los protozoarios se registraron cinco especies, dos de la Subclase Peritricha, un Suctoria, una Gregarinidae gen. sp. y un quiste (foronte) de ciliado apostomatido imposible de identificar (Tabla 3). Todas las especies en la tabla 3, ya han sido registradas tanto en la parte norte del Golfo de México (Overstreet, 1973) y en la costa de Yucatán (Vidal-Martínez *et al.*, 2002). En la tabla 3 se detallan el hábitat tanto de helmintos como de protozoarios en las dos especies de camarones estudiadas, así como su presencia entre épocas del año y las localidades en que se registraron.

Tabla 3. Registro de las especies de helmintos y protozoarios en camarones *Penaeus duorarum* y *Penaeus brasiliensis* por épocas del año. Celestún (Ce), Sisal (S), Chabihau (Ch), Ria Lagartos (Rl) y Yalahau (Ya). Pp = pleópodos, Pl = pereiópodos, Exos = Sobre el Exoesqueleto, Co = corazón, Bra = Branquias, Cf = Cefalotórax, M = Músculo, Int = Intestino y H = hepatopáncreas

Especie	Hábitat	Hospedero	Época		
			Nortes	Secas	Lluvias
Cestoda					
<i>Prochristianella hispida</i> (Linton, 1890)	H	<i>P. duorarum</i> y <i>P. brasiliensis</i>	Ce, Ch, Rl y Ya	Ce, Rl y Ya	Ce, Rl y Ya
Digenea					
<i>Opecoeloides fimbriatus</i> (Linton, 1934)	Exob, Bra, Co y Cf	<i>P. brasiliensis</i>	Ya	Ya y Rl	Ya y Rl
<i>Helicometrina nimia</i> (Linton 1910)	Cf	<i>P. brasiliensis</i>			Ya y Rl
Peritricha					
<i>Epistylis</i> sp. (Kent, 1981).	Pp, Pl, Exos, Bra	<i>P. brasiliensis</i> y <i>P. duorarum</i>	Ce, Rl y Ya	Ce y Ya	Ce y Rl
<i>Zoothamnium penaei</i> (Villela <i>et al.</i> , 1970)	Pp, Pl, Exos, Bra	<i>P. brasiliensis</i> y <i>P. duorarum</i>	Ce, Ch, Rl y Ya	Ce y Ya	Ce y Rl
Suctoria					
<i>Acineta tuberosa</i> (Kormos, 1957)	Pp, Pl y Exos	<i>P. brasiliensis</i>	Rl	Ce	Ce
Gregarina					
Gregarinidae gen. sp.	Int	<i>P. brasiliensis</i>	Rl y Ya	Ya	Rl y Ya
<i>Apostoma</i> (Chaton y Lwoff, 1935)	Bra	<i>P. brasiliensis</i> y <i>P. duorarum</i>	Ce, Rl y Ya	Ce, Ya	Ce, Rl

3.5.3 Descripción de las infecciones de cada especie de parásitos y variación espacio-temporal

a) *Panaeus brasiliensis*

En la tabla 4 se muestran la prevalencia e intensidad promedio de los helmintos. Los valores de prevalencia del céstodo *P. hispida* en la mayoría de las localidades y épocas oscilaron entre 90 a 100 %, excepto para Chabihau en donde se registró solo un 16%. La única localidad en la que hubo diferencias significativas en la prevalencia de *P. hispida* entre épocas fue Ria Lagartos (G-test; $X^2_{0.095(2)}=58.98$; $P<0.05$). Con respecto a la intensidad promedio de todas las localidades, no hubo diferencias significativas entre lluvias y nortes, pero si entre estas dos épocas y secas (KW, $H=11.95$, $df=2$, $P<0.05$). Adicionalmente, hubo diferencias significativas en las intensidades promedios de *P. hispida* entre las cuatro localidades (KW, $H=72.60$, $df=2$, $P<0.05$) (Fig. 4).

El tremátodo *O. fimbriatus* solo se registró en el camarón rojo *P. brasiliensis* en Ria Lagartos y Yalahau, siendo en Yalahau donde se registraron las prevalencias más altas en las tres épocas muestreadas, las cuales oscilaron entre 63 a 86 %. No hubo diferencias significativas en las prevalencias en ambas localidades entre las tres épocas muestreadas (G-test; $X^2_{0.095(2)}=2.8$; $P<0.05$). Sin embargo, si hubo diferencias significativas en intensidad promedio entre las dos localidades (KW, $H=66.49$, $df=2$, $P<0.05$), (Fig. 4). Al igual, hubo diferencias significativas entre las tres épocas (lluvias, nortes y secas), (KW, $H=10.62$, $df=2$, $P<0.05$).

El trematodo *H. Nimia* se registró en las localidades de Ria Lagartos y Yalahau pero con valores muy bajos de infección, lo cual impide la comparación entre épocas y localidades (Fig. 4).

Tabla 4. Prevalencias (%), e Intensidad promedio (IP) de los helmintos en los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis* en Celestún, Sisal, Chabihau, Ria Lagartos, Yucatán y Yalahau (Quintana Roo) en tres épocas del año (N = nortes, S = secas y LL = lluvias), DS = desviación estándar, n = tamaño de la muestra, *P. hispida*= *Prochristianella hispida*, *O. fimbriatus* = *Opecoeloides fimbriatus*, *H. nimia* = *Helicometrina nimia*.

LOCALIDAD	n	ÉPOCA	<i>P. hispida</i>		<i>O. fimbriatus</i>		<i>H. nimia</i>	
			%	IP±DS	%	IP±DS	%	IP±DS
<i>Penaeus brasiliensis</i>								
	30	N	100	13.1 ± 0.15				
Celestún	30	S	96	11.8 ± 0.22				
	30	LL	100	17.5 ± 0.25				
Chabihau	18	N	16	3.30 ± 0.00				
	30	N	23	5.10 ± 0.34				
Ria Lagartos	30	S	100	9.90 ± 0.23	26	1.25 ± 0.09		
	30	LL	90	9.90 ± 0.18	26	3.25 ± 0.20	3	1 ± 0.00
	30	N	100	38.2 ± 0.34	86	8.40 ± 0.37		
Yalahau	30	S	100	18.3 ± 0.21	63	8.00 ± 0.33		
	30	LL	100	14.4 ± 0.45	80	14.7 ± 0.46	3	1 ± 0.00
<i>Penaeus duorarum</i>								
	30	N	96	6.34 ± 0.19				
Célestún	30	S	93	11.7 ± 0.29				
	30	LL	100	14.9 ± 0.17				
Sisal	30	N	--	--				

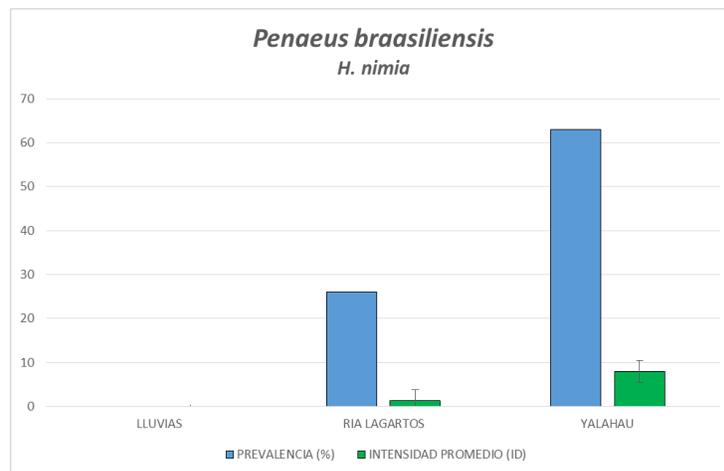
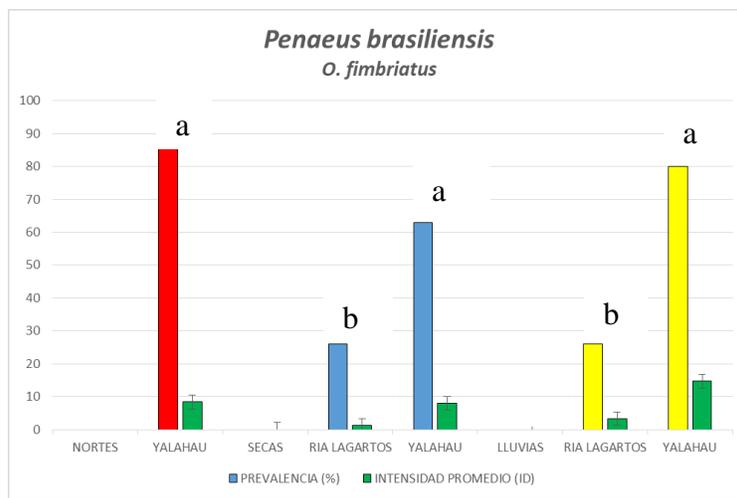
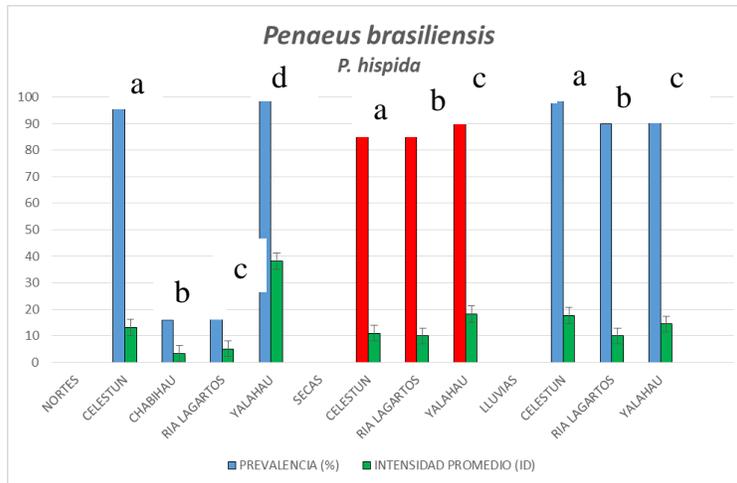


Figura 4. Prevalencia (%) e intensidad promedio (IP) de las especies de helmintos de *Penaeus brasiliensis*. En Celestún, Chabihau, Ria Lagartos, Yucatán y Yalahau, Quintana Roo. Colores diferentes indican diferencia significativa en cuanto a época del año. Letras diferentes indican diferencias significativas en cuanto a localidad.

En la Tabla 5 se muestran la prevalencia y abundancia estimada de protozoarios encontrados en ambas especies de camarón. Los valores de prevalencia de *Z. penaei* entre localidades oscilaron entre 10 a 66 %, siendo Chabihau la localidad con el valor más bajo en nortes y Celestún la de prevalencias más altas en secas y lluvias. Hubo diferencias significativas en las prevalencias de las tres épocas muestreadas en las diferentes localidades Celestún (G-test; $X^2_{0.095 (2)}=8.52$; $P<0.05$), Ria Lagartos (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=16.28$; $P<0.05$) y Yalahau (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=7.78$; $P<0.05$). En cuanto a la abundancia estimada, hubo diferencias significativas en *Z. penaei*, entre nortes con respecto a secas y lluvias (KW=15.04, df=2, $P<0.05$). Hubo al igual diferencias en las abundancias estimadas de *Z. penaei* entre Ria Lagartos con respecto a Celestún y Yalahau (KW=17.32, df=3, $P<0.05$) (Fig. 5).

En *Epistylis* sp. las prevalencias oscilaron entre 6 y 53 %. El valor más alto registrado en nortes fue en Yalahau mientras que en secas y lluvias fue en Celestún. Solo Yalahau tuvo diferencias significativas en prevalencia entre épocas de muestreo (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=17.16$; $P<0.05$). La abundancia estimada osciló entre 0.20 ± 0.38 a 38.3 ± 0.64 , con los valores significativamente más altos para todas las localidades en nortes respecto a secas y lluvias (KW, H=18.92, df=2, $P<0.05$), (Fig. 5). Adicionalmente se observaron diferencias significativas en la abundancia estimada de *Epistylis* sp. entre Ría Lagartos y Yalahau (KW, H=10.47, df =2, $P<0.05$), (Fig. 5).

Acineta tuberosa, solo se observó en Celestún, Chabihau y Ria Lagartos. Su prevalencia osciló entre 6 a 43%, y su abundancia estimada entre 0.13 ± 0.0 y 0.86 ± 0.0 (Fig. 5).

Las gregarinas (Gregarinidae gen. sp.) solo se registraron en Ria Lagartos y Yalahau, y sus prevalencias se mantuvieron en 3 % excepto para lluvias en Ria Lagartos en donde alcanzaron el 10 %, y por tal razón hubo diferencias significativas entre épocas (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=2.12$; $P<0.05$). Con respecto a la abundancia estimada hubo diferencias significativas entre épocas, con los mayores valores en lluvias (KW, H=10.47, df=2, $P<0.05$) (Fig. 5).

Finalmente, *Apostoma* sp. se registró en Celestún, Ria Lagartos y Yalahau, y su prevalencia osciló entre 13 a 43 %, siendo en Ria Lagartos en época de lluvias donde se registraron valores significativamente más altos (G-test; $X^2_{0.095(2)}=6.1$; $P<0.05$). La abundancia estimada osciló entre 0.10 ± 0.0 a 5.50 ± 0.0 siendo en lluvias y nortes significativamente más altos que en secas (KW=21.80, df=2, $P<0.05$). Adicionalmente, no hubo diferencias significativas en la abundancia estimada de *Apostoma* sp. entre localidades (KW, H=2.22, df=2, $P<0.05$), (Fig. 5).

Tabla 5. Prevalencias (%) y Abundancia estimada \pm Desviación estándar (AE \pm DS) de protozoarios encontrados en los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis* en Celestún, Sisal, Chabihau, Ria Lagartos (Yucatán) y Yalahau (Quintana Roo) en tres épocas del año (N = nortes, S = secas y LL = lluvias), DS = desviación estándar, n = tamaño de la muestra, *Z. Penaei* = *Zoothamnium penaei*, *A. tuberosa* = *Acineta tuberosa*.

LOCALIDAD	n	EPOCA	<i>Z. penaei</i>		<i>Epistylis</i> sp		<i>A. tuberosa</i>		Gregarinidae gen. sp.		<i>Apostoma</i> sp.	
			%	AE \pm DS	%	AE \pm DS	%	AE \pm DS	%	AE \pm DS	%	AE \pm DS
<i>Penaeus brasiliensis</i>												
	30	N	36	10.0 \pm 0.56	50	5.33 \pm 0.42						
Celestún	30	S	56	2.53 \pm 0.34	30	1.90 \pm 0.27					26	3.83 \pm
	30	LL	23	3.46 \pm 0.00	40	3.36 \pm 0.33	6	0.13 \pm 0.00			26	0.10 \pm
Chabihau	18	N	10	1.81 \pm 0.84			43	0.86 \pm 0.00	3	0.13 \pm 0.00	36	0.83 \pm
	30	N	66	74.0 \pm 0.03	26	38.3 \pm 0.64						
Ria Lagartos	30	S	13	0.56 \pm 0.53			10	0.33 \pm 0.00			26	2.40 \pm
	30	LL	16	1.66 \pm 0.36	36	3.80 \pm 0.68			10	0.50 \pm 0.00		
	30	N	53	4.80 \pm 0.15	53	5.40 \pm 0.27			3	0.33 \pm 0.00	43	5.50 \pm
Yalahau	30	S	16	0.73 \pm 0.27	6	0.20 \pm 0.38			3	0.33 \pm 0.00	40	3.40 \pm
	30	LL							3	0.10 \pm 0.00	13	0.33 \pm
<i>Penaeus duorarum</i>												
	30	N	40	8.50 \pm 0.52	46	6.40 \pm 0.36						
Celestún	30	S	20	3.44 \pm 0.09	10	1.08 \pm 0.15						
	30	LL										
Sisal	30	N			10	0.26 \pm 0.00						

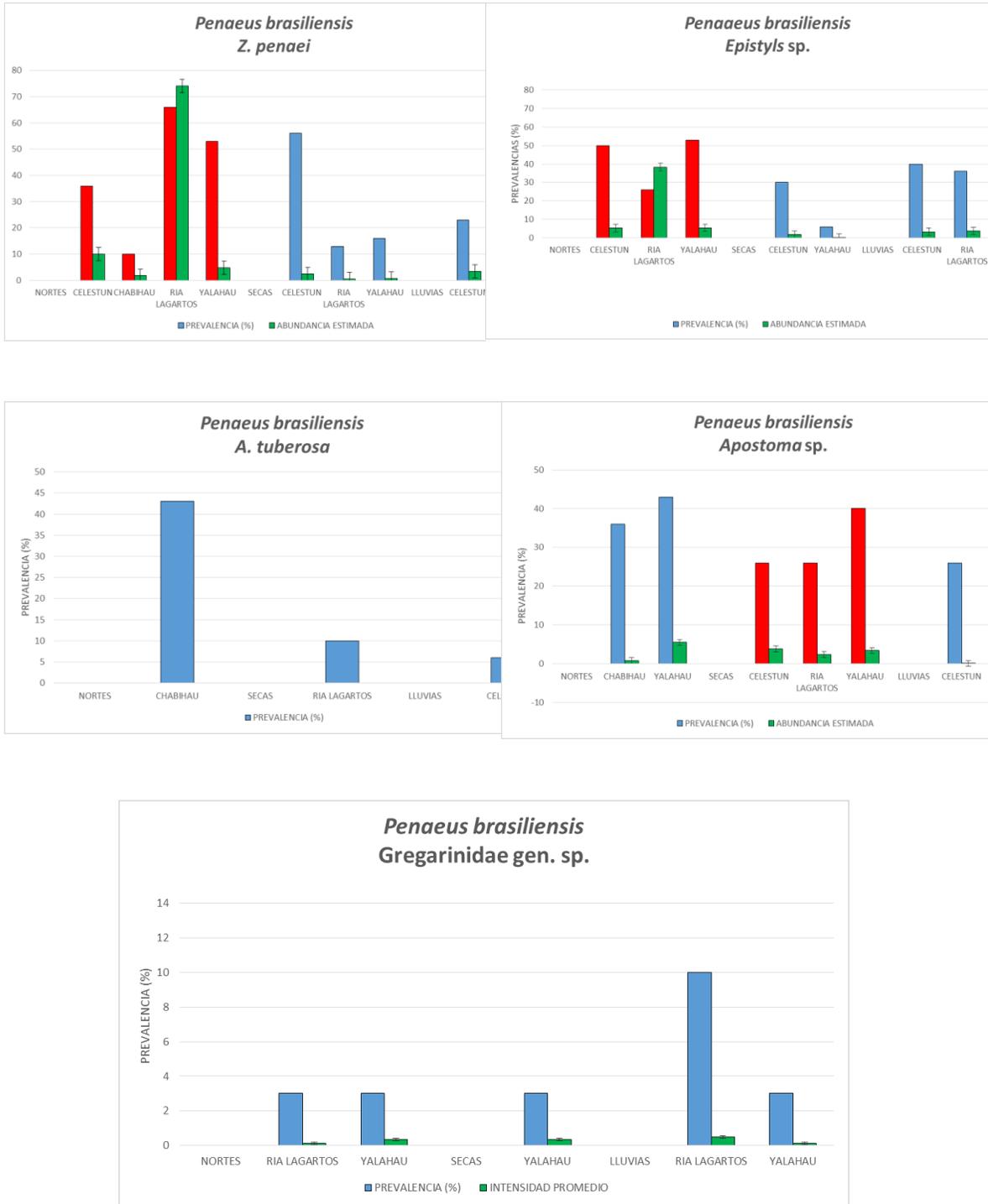


Figura 5. Prevalencia (%), Intensidad promedio (IP) y Abundancias estimada (AE) de las especies de protozoarios de *Penaeus brasiliensis*. Celestún, Chabihau, Ría Lagartos, Yucatán y Yalahau, Quintana Roo. Colores diferentes indican diferencia significativa en cuanto a época del año. Letras diferentes indican diferencia significativa en cuanto a localidad.

a) *Panaeus duorarum*

La prevalencia de *P. hispida* en *P. duorarum* osciló entre 93 a 100% en Celestún, y no hubo diferencias significativas entre épocas (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=11.74$; $P<0.05$). En Sisal no se registró el céstodo. Los valores de intensidad promedio oscilaron entre 6.34 ± 0.1 a 14.0 ± 0.1 , y hubo diferencias significativas en lluvias respecto a secas y nortes ANOVA de una vía, $F_{1, 2}=15.22$, $P<0.05$ (Fig. 6).

Como se encontraron diferencias significativas entre épocas se aplicó la prueba de rangos múltiples de LSD. En la comparación de las intensidades promedio de los céstodo con respecto a las tres épocas, resultó que nortes difiere de secas que a su vez son diferentes significativamente de lluvias (Fig. 6).

En cuanto a ectocomensales, los valores de prevalencia de *Z. penaei* oscilaron entre 10 y 46% en Celestún y Sisal (Tabla 6). Hubo diferencias significativas en prevalencias entre épocas en ambas localidades (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=0.4$; $P<0.05$) (Tabla 6). Al igual hubo diferencias significativas en las abundancias estimadas de *Z. penaei* entre lluvias y secas (KW, $H=17.25$, $df=2$, $P<0.05$). Adicionalmente, hubo diferencias significativas en la abundancia estimada de *Z. penaei* entre Celestún y Sisal (KW, $H=5.36$, $df=1$, $P<0.05$), (Fig. 6).

Epistylis sp. sólo se registró en Celestún en nortes y secas, con valores de prevalencia de 10 a 46% respectivamente. Hubo diferencias significativas en la prevalencia entre ambas épocas (G-test; $X^2_{0.095 (1)}=31.02$; $P<0.05$), al igual que en la abundancia estimadas (KW, $H=15.05$, $df=2$, $P<0.05$), (Fig. 6).

Tabla 6. Porcentaje de infección (%) de helmintos y protozoarios en cortes histológicos en órganos y estructuras de los camarones rosado *Penaeus duorarum* y rojo *Penaeus brasiliensis*. Los datos corresponden a cuatro localidades en Yucatán y una en Quintana Roo y a tres diferentes épocas (N = nortes, S = secas y Ll = lluvias). n = número de camarones examinados por época. Ch = Chabihau.

Órgano	n	Celestún			Sisal	Ch	Ria Lagartos			Yalahau			
		N	S	LL	N	N	N	S	LL	N	S	LL	
<i>Penaeus brasiliensis</i>	282	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hepatopáncreas (<i>P. hispida</i>)	-	6	73	13	-	-	6	66	13	60	90	86	
Nódulos (bacterias)	-	3	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	
Infiltración (incre. de hemocitos)	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	
Corazón (<i>O. fimbriatus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	20	-	
Branquias (<i>Z. penaei</i> y <i>Epistylis</i> sp.)	-	93	-	-	-	-	76	3	60	60	-	6	
Intestino (Gregarinidae. gen. sp.)	-	-	-	-	-	-	6	3	6	-	6	-	
Microsporidios	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	
<i>Penaeus duorarum</i>	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hepatopáncreas (<i>P. hispida</i>)	-	90	86	86	3	-	-	-	-	-	-	-	
Nódulos (bacterias)	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Infiltración (Inc. de hemocitos)	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Branquias (<i>Z. penaei</i> y <i>Epistylis</i> sp.)	-	26	-	63	-	-	-	-	-	-	-	-	
Intestino (Gregarinidae gen. sp.)	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

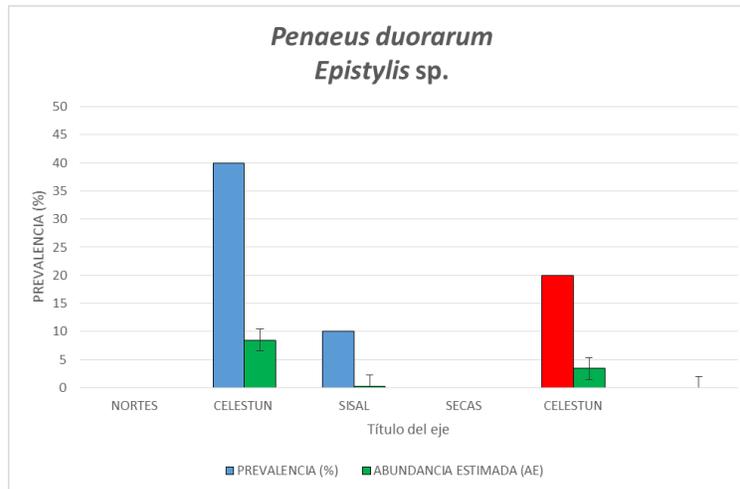
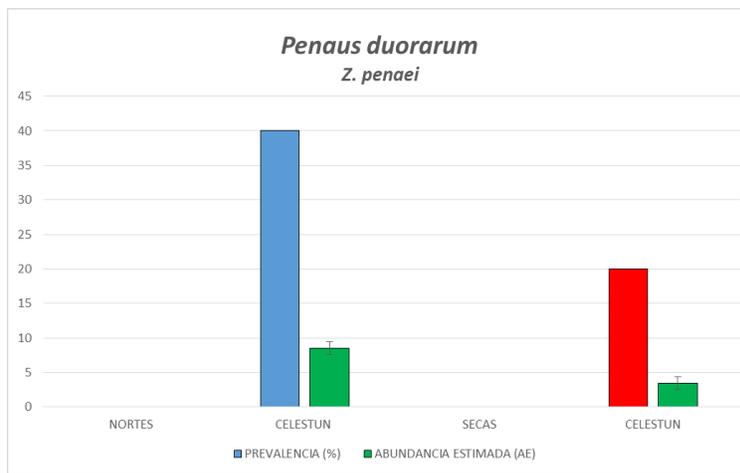
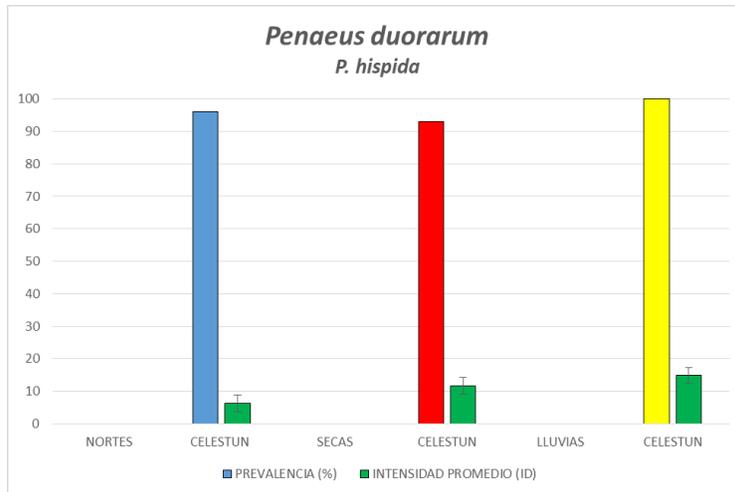


Figura 6. Prevalencia (%), intensidad promedio (IP) y abundancia estimada (AE) de las especies de helmintos y protozoarios de *Penaeus duorarum*. Celestún y Sisal, Yucatán. Colores diferentes indican diferencias significativas en cuanto a épocas

3.5.4 Histología

De un total de 402 camarones fijados para histología de ambas especies (282 *P. brasiliensis* y 120 *P. duorarum*), se obtuvieron 1,206 casetes para estudio. En la Tabla 6 se muestran los porcentajes obtenidos en las observaciones realizadas a los diferentes órganos y estructuras.

La tasa de infección de *P. hispida* oscilo entre 6 a 90 % para el camarón rojo y entre 3 a 90% para el camarón rosado. En algunos casos se formó una capa de fibroplastos (capa protectora o cápsula) alrededor del parásito ocasionando una ligera infiltración de hemocitos (inflamación) (Fig. 7). También se observaron nódulos ocasionados por bacterias.

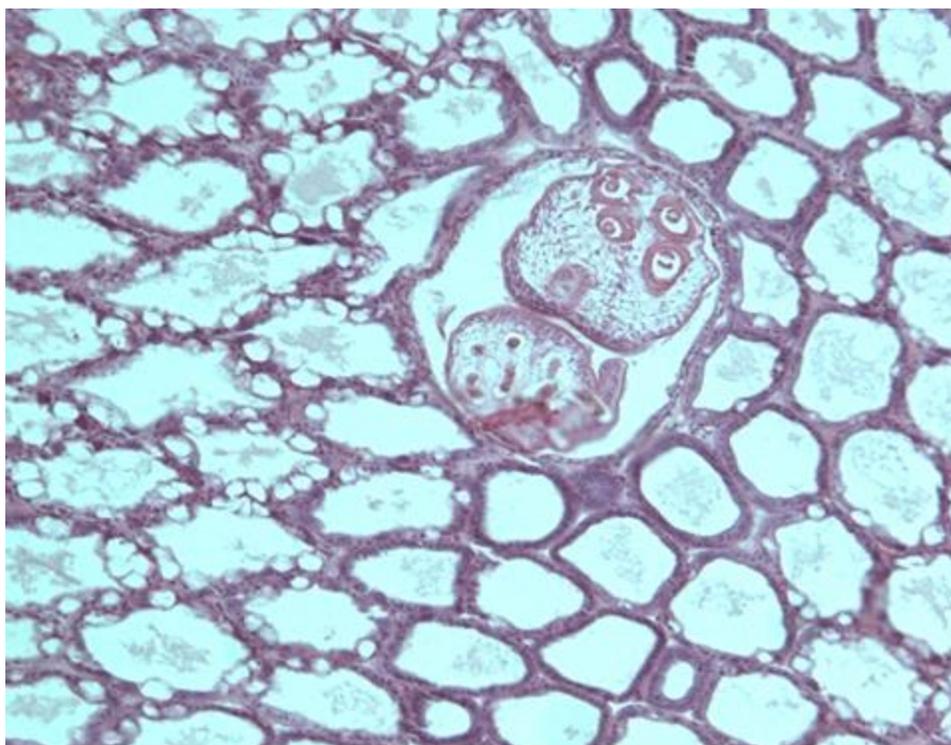


Figura 7. *Prochristianella hispida* (Ph) en hepatopáncreas del camarón rojo *Penaeus brasiliensis*

Con respecto a los trematodos *Opecoeloides fimbriatus*, la tasa de infección se registró entre 6 a 20 %; estas metacercarias, se alojaron en el corazón, observándose una ligera infiltración de hemocitos.

Los ectocomensales se localizaron en las branquias y no ocasionaron reacción alguna. La tasa de infección estuvo entre, 3 a 93 % (Fig. 8).

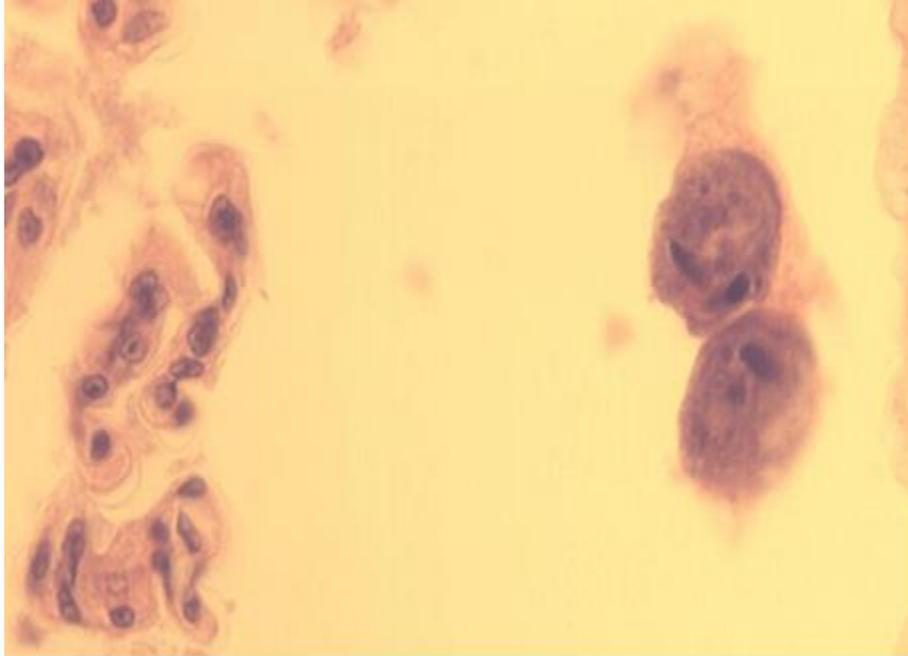


Figura 8. *Zoothamnium penaei* (señalado con flecha) en las branquias del camarón rosado *Penaeus duorarum* 40x

Las gregarinas estuvieron presentes entre un 3 a 6 % y se alojaron en el intestino. Tampoco hubo daños aparente (Fig. 9). Por último se observó un camarón rojo *P. brasiliensis* con microsporidiosis (3%), pero sin una patología aparente asociada (Fig. 10).



Figura 9. Gregarinidae gen. sp. (Señalado con flecha) en el intestino del camarón rojo *Penaeus brasiliensis* 25x

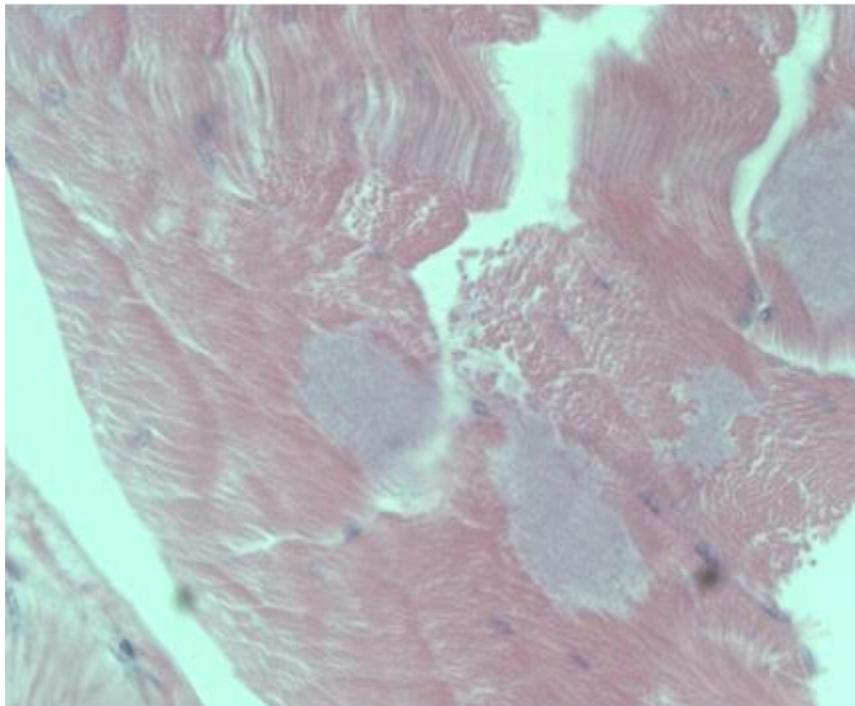


Figura 10. Microsporidio en el músculo del camarón rojo *Penaeus brasiliensis* 40x

3.6 Discusión

Los resultados descritos en este capítulo demuestran que existe variación espacial y temporal de los helmintos y protozoarios presentes en los camarones rosado *P. duorarum* y rojo *P. brasiliensis*.

Las poblaciones silvestres de estos camarones estuvieron parasitadas por tres especies de helmintos y cinco especies de protozoarios (cuatro ectocomensales y un parásito). Esto coincide con lo reportado por Vidal-Martínez *et al.* (2002) quienes registraron siete especies (dos helmintos y cinco protozoarios) que parasitan al camarón rosado y ocho especies (tres helmintos y cinco protozoarios) que parasitan al camarón rojo. En este trabajo se encontraron tres especies registradas previamente en la Península de Yucatán para *P. duorarum* y cinco especies reportadas para *P. brasiliensis*.

Durante el estudio fue notoria la persistencia temporal y espacial de los céstodos para ambas especies de camarones, ya que fue el grupo con mayores niveles de infección (prevalencia e intensidad promedio).

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este capítulo coincidieron con los de Vidal-Martínez *et al.* (2002), Chávez-Sánchez e Higuera-Ciapara (2003). Del Rio *et al.*, 2010 y Valdés-Murillo, 2010, en que los céstodos *P. hispida* son los parásitos más prevalentes y más ampliamente distribuidos en camarones de la región. Estos parásitos claramente están asociados a la presencia de elasmobranchios del grupo de las rayas tanto en la zona costera como en la zona marina somera a lo largo de la costa de Yucatán. Esta es una situación que seguramente se repite a lo largo de toda la costa de del Golfo de México, dado los registros de Overstreet (1973) en Mississippi (EU). A pesar de que no existe un trabajo previo de variación temporal para comparar los datos obtenidos en este trabajo, fue evidente que *P. hispida* fue la especie más prevalente en camarón rojo en la época de secas. Este resultado coincide con lo registrado por Chávez-Sánchez *et al.* (2002), que obtuvo las prevalencias más elevadas para esta especie en el mes de mayo (época de secas). A pesar de que las prevalencias de esta especie fueron homogéneamente elevadas a lo largo de la costa de Yucatán en el camarón rojo, las intensidades promedios de Yalahau fueron excepcionalmente

elevadas en nortes, lo cual coincide con el trabajo realizado por Marmolejo-Guzmán (2018), quien trabajo con los parásitos del Pulpo *Octopus maya* y reporta al céstodo *P. hispida* como el parásito más prevalente y abundante en la zona del Ria Lagartos, coincidiendo con la época de nortes.

El segundo grupo de helmintos en importancia fue el de los trematodos, representados en este caso por *O. fimbriatus*, el cual se encontraba en fase larval (metacercaria). Este fue un parásito común en *P. brasiliensis*, más frecuente en las épocas de secas y lluvias con prevalencias de 26 a 80 % en Ría Lagartos y Yalahau. Es claro que estos helmintos son parásitos de peces marinos cuando adultos y que utilizan al camarón como hospedero intermediado. Es necesario realizar estudios referentes a diferentes rangos fisicoquímicos y relacionarlos con la abundancia del trematodo. Vidal-Martínez *et al.*, 2002, reportaron esta especie en Chuburná en el camarón café *P. aztecus* con una prevalencia de 5 %. Couch (1978) en la parte norte del Golfo de México, reportó prevalencias de 90 % en camarones rosados. Couch (1978) mencionan que en Mississippi y Bahía Apalachee *O. fimbriatus* es común en los camarones peneidos durante el verano (época de lluvias). Kruse (1959) menciona que los camarones son infectados en las bahías y que incrementa el número de metacercarias de *O. fimbriatus* cuando termina la primavera.

En cuanto al trematodo *H. nimia* fue una especie accidental ya que solo se encontraron dos ejemplares. Yamaguti (1971) menciona que *H. nimia* es común en peces marinos. En la Península de Yucatán esta especie de parásito ha sido registrada por Pérez-Ponce de León (1992), quien la encontró en *Bothus lunatus* en Puerto Morelos, Quintana Roo. Por otro lado, Moravec *et al.* (1997) la registraron en *Epinephelus morio* en Campeche y Argáez-García (2003) la encontró en *Lutjanus griseus* en Progreso, Yucatán. Claramente es una especie ampliamente distribuida en la costa de la Península de Yucatán. Los hábitos alimenticios de estos peces son carnívoros y organismos como los camarones constituyen parte de sus dietas. En esta circunstancia, los camarones actúan como hospederos intermediarios (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

Zoothamnium penaei y *Epistylis* sp. fueron los ectocomensales más prevalentes y abundantes en ambas especies de camarón. Además, sus abundancias estimadas en nortes fueron significativamente mayores. Es común ver a los ectocomensales en ambientes dulceacuícolas y en organismos cultivados en época de nortes, debido a que se encuentra mayor número de postlarvas que en las lagunas y a mayor densidad de organismos por m² los ectocomensales son más abundantes (Edgerton *et al.* 2002).

Pérez-Castañeda (2000, 2001), trabajó con la estructura espacio temporal de los camarones peneidos en Celestún y menciona que existe un patrón bimodal en la abundancia de reclutas, donde el primer reclutamiento fue entre enero y febrero. Esto claramente aumenta la densidad de organismos por metro cuadrado en las lagunas y por tal razón incrementa a su vez la probabilidad de transmisión de los ectocomensales. May-Ku (1999) reportó para Ria Lagartos que en los meses de noviembre a diciembre se registraron las densidades máximas reclutas. Ambos trabajos concuerdan con Overstreet (1973), quien observó que al incrementar la densidad de siembra del camarón, paralelamente incrementa la densidad de estos comensales. Finalmente, los resultados coinciden con los de Overstreet (1973) y Vidal-Martínez *et al.* (2002) que registraron a *Zoothamnium* sp. como el ectocomensal más común entre los camarones revisados en Louisiana y Texas mientras que el ectocomensal más frecuente en la costa de Yucatán es *Epistylis* sp.

En este trabajo se registró al ciliado *Apostoma* sp. en el camarón rojo *P. brasiliensis* con una mayor abundancia en nortes. En contraste, Couch (1974) menciona que las mayores infestaciones en el camarón rosado ocurren en la época de mayor temperatura. Claramente, el hecho de que los resultados de este autor provengan de una latitud mayor, implica necesariamente una diferencia en temperaturas bastante importante. Por tanto, es muy probable que esta especie tenga una dinámica distinta entre Yucatán y Florida. Definitivamente es necesaria más investigación sobre este parásito para lograr una identificación a nivel de especie. En este sentido Couch (1976) y Lightner (1996) reportaron un apostomatido ciliado en branquias de *P. duorarum* en el noroeste de Florida y en *P.*

vannamei respectivamente. En ambos casos, tampoco fue posible lograr la identificación específica.

En cuanto a *Acineta tuberosa*, solo se registró en siete camarones de Celestún en época de lluvias y en tres organismos de Ria Lagartos en nortes. Dado esto, no fue posible realizar un análisis estadístico. Con respecto a los registros de *A. tuberosa* en México, López-Ochoterena (1963) la encontró adherida al pedúnculo de *Systylis hoffi*. Martínez-Murillo y Aladro-Lubel (1994) la registraron en camarones que se encontraban en pasto marino *Halodule beaudettei* en la laguna de Tamiahua, Veracruz. Finalmente, Vidal-Martínez *et al.* (2002) la registraron en el camarón café y rosado en Chuburná, Yucatán. Claramente, esta es una especie oportunista que bien se puede encontrar en diferentes sustratos y entre ellos los camarones.

Durante la revisión en fresco se detectaron gregarinas (Gregarinidae gen. sp.) en el intestino de los camarones rojos *P. brasiliensis*, en Ria Lagartos y Yalahau (en cinco y cuatro organismos respectivamente). Histológicamente no se observaron daños asociados a las presencias de estas gregarinas. Sin embargo, es bien sabido que son capaces de producir serios problemas de mortalidad en camarones cultivados (Lightner, 1996). De hecho, dado su complejo ciclo de vida y capacidad de dispersión a través de esporas, no sería difícil encontrarlas en camarones cultivados en las costas de la Península de Yucatán. Claramente, estas gregarinas merecen posterior investigación en cuanto a su ciclo de vida por su potencial patogenicidad hacia camarones cultivados a lo largo de la zona costera del Golfo de México. La identificación de las gregarinas fue imposible dado su escaso número. Sin embargo, es probable que pertenezcan al género *Nematopsis*, muy común en ostiones *Crassostea virginica* en la zona costera del Golfo de México (Aguirre-Macedo y Kennedy, 1999). Por otro lado, Overstreet (1973) en Estados Unidos reportó a las gregarinas *Nematopsis brasiliensis* y *Nematopsis penaeus* como parásitos del camarón rojo. Finalmente, Chávez-Sánchez *et al.* (2002), observaron histológicamente a los géneros de las gregarinas *Nematopsis* spp. y *Cephalolobus* spp. en los camarones silvestres de las especies *P. setiferus*, *P. duorarum* y *P. aztecus* del Golfo de México de Tamaulipas y Veracruz con prevalencias de 3 a 53%.

En ningún caso se registraron daños histológicos de consideración, lo cual concuerda por lo reportado con Del Rio *et al.* (2010) y Valdés-Murillo (2010), quienes reportan que histológicamente no se encontraron daños importantes por la presencia del cestodo. Sin embargo, es necesario mencionar que dadas las densidades de camarones en poblaciones naturales es muy probable que no se haya sido capaz de detectar organismos altamente infectados.

CAPÍTULO 4 Variación Temporal de los protozoarios ectocomensales presentes en el camarón blanco *Penaeus vannamei* en cautiverio

4.1 Introducción

Los protozoos ectocomensales y ciliados son de forma ovoide o de campana invertida. Los organismos del género *Zoothamnium* sp. se distinguen de otros géneros por presentar un pedúnculo contráctil con mioma continuo donde las ramificaciones y el individuo se contraen al mismo tiempo. Pueden presentarse en colonias o individualmente. (Kudo, 1982). Generalmente se localizan en los apéndices locomotores, branquias y exoesqueleto del camarón. Los altos niveles de infestaciones afectan el equilibrio entre los diferentes componentes del ecosistema formando condiciones inestables que afectan la respiración de los hospederos, provocando poca tolerancia a las bajas concentraciones de oxígeno disuelto y reducción en el consumo de alimento, afectando el crecimiento del camarón (Gutiérrez-Salazar, 2011; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Adicionalmente, se les considera verdaderamente graves en la fase larval del camarón ya que pueden alterar la locomoción provocando un nado anormal y en la transportación llegando a causar altas mortalidades (Kautsky *et al.*, 2000; Morales y Cuéllar-Anjel, 2014). Estudios más recientes mencionan que el grado de severidad está relacionado con el incremento de la biomasa, aumento de la ración alimenticia y por consecuencia mayor cantidad de heces, provocando incremento en la materia orgánica en el estanque, si se registra bajas de oxígeno todo este conjunto provoca un ambiente favorable al epibiontes (Olivas-Valdez *et al.*, 2010). Según Overstreet (1973), las infestaciones por ciliados en las branquias no afectan aparentemente el crecimiento del camarón.

La mayoría de los estudios sobre protozoarios ectocomensales del camarón, se refieren principalmente a la descripción de las características morfológicas o a la presencia de éstos. Pocos inciden, sin embargo en aspectos ecológicos esenciales que puedan afectar el cultivo del camarón, como es el caso de la variación estacional de sus frecuencias y abundancias estimadas lo largo de un ciclo anual (Fernández-Leborans *et al.*, 1997; Gutiérrez-Salazar, 2011).

Fitzgerarld *et al.* (1982) encontraron que en los estanques de cultivo más eutrofizados y con deplorable calidad del agua, las concentraciones de bacterias aumentan y por lo tanto existen niveles altos de infestación de los ciliados peritricos tales como *Epistylis* sp. y *Zoothamnium* sp. que se alimentan a su vez de estas bacterias. Las infestaciones de *Epistylis* sp. aumentan conforme se incrementa la turbidez, no sucediendo lo mismo con *Acineta* sp. (Scott y Thune, 1986; Jayakumar y Ramasamy, 1999).

En el sureste mexicano existen muy pocos estudios acerca de los parásitos y las enfermedades que afectan a los camarones nativos e introducidos (*P. vannamei*) en el Golfo de México. Hasta el momento, los estudios realizados en Yucatán se han enfocado a la detección e identificación de los parásitos y metazoarios. Vidal-Martínez *et al.* (2002), describieron la prevalencia de parásitos y simbioses en tres especies de camarón silvestre (*P. aztecus*, *P. duorarum* y *P. brasiliensis*) y de camarón cultivado (*P. vannamei*). Estos autores registraron los protozoarios epibiontes *Apiosoma* sp. (Prevalencia 6-57%), *Epistylis* sp. (2-29%), *Zoothamnium penaei* (2-65%) y al microsporidio *Agmasoma penaei* (2%) en camarones cultivados en Sisal.

Por otro lado, Chávez-Sánchez *et al.* (2002), realizaron un estudio en camarones del Golfo de México tanto silvestres como introducidos para cultivo, en sus observaciones histológicas, los camarones *P. vannamei* cultivados en Tamaulipas y el resto de los camarones silvestres del Golfo resultaron negativos con respecto a ectocomensales. Sin embargo, Jiménez-Cueto (1999) registró protozoarios en placas histológicas en camarones silvestres *P. duorarum*, *P. brasiliensis* y cultivados en *P. vannamei* en Sisal, Yucatán. Lo anterior, sugiere un probable comportamiento espacio temporal en la presencia de estos organismos. Sin embargo, a la fecha tal información no existe en organismos silvestres ni en camarones cultivados en México. Gutiérrez-Salazar (2011) trabajo en determinar y detectar algunos patógenos relacionados con los factores fisicoquímicos en el cultivo del camarón blanco *P. vannamei* cultivado en Tamaulipas y encontró que para *Epistylis* sp. existe mayor relación con la concentración de oxígeno disuelto, seguido de temperatura, pH y por ultimo turbidez. Mientras que para *Zoothamnium* sp. fue el pH.

Claramente, es de esperar que conforme se incrementara la temperatura y la densidad de siembra en camarones cultivados, aumentará también el número de ectocomensales y esto a su vez aumentará el riesgo de la mortalidad debido a la competencia por el oxígeno (Overstreet, 1979).

En este capítulo se abordó la variación temporal de los ectocomensales presentes en los camarones cultivados de *P. vannamei* y se determinó si existe o no asociación entre factores tales como temperatura, salinidad, concentración de oxígeno disuelto, transparencia, densidad de siembra, supervivencia y la abundancia estimada de los ectocomensales presentes en los camarones. Las hipótesis de trabajo sugieren que existe variación mensual en la prevalencia, intensidad promedio y grado de infestación de ectocomensales presentes en el camarón blanco *P. vannamei*, y que esta variación está asociada a los factores fisicoquímicos.

4.2 Hipótesis

La presencia de ectocomensales en camarones cultivados, es igual durante las diferentes épocas del año a lo largo de la costa de Yucatán.

4.3 Objetivos

- a) Conocer que especies de ectocomensales se asocian a los camarones cultivados *P. vannamei*, en la Península de Yucatán
- b) Cuantificar la variación temporal de los ectocomensales presentes en los camarones *P. vannamei* cultivados
- c) Determinar si existe correlación entre la abundancia estimada de los ectocomensales y los factores ambientales temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, transparencia y supervivencia y densidad de siembra.

4.4 Material y Método

Se efectuó un muestreo mensual en una granja de producción de camarón en la localidad de Sisal, Yucatán durante un ciclo anual (diciembre 2001 a noviembre 2002). Cada mes se seleccionó, al azar un lote de la producción de pre engorda, y se realizaron extracciones del estanque sin reemplazo. Se tomaron parámetros biométricos, longitud cefalotóraxica (LC) y peso (g), así como el sexo, de acuerdo con Pérez-Farfante (1988). Las mediciones se tomaron con un vernier. Se registraron los factores fisicoquímicos tres veces al día (alba, medio día y cenit), la salinidad (‰) se midió con un refractómetro digital, la concentración de oxígeno disuelto (mg/l) y la temperatura (°C) con una sonda multiparamétrica YSI modelo 50, y la transparencia con disco de Secchi (cm). Se obtuvieron los datos de supervivencia (%) en la cosecha del estanque y densidad de siembra (número de org/m²), los cuales fueron otorgados por el personal de la granja.

El tamaño de muestra a utilizar para este estudio, se basó en el recomendado por Lightner (1996), asumiendo un 10% de prevalencia (30 camarones). Para determinar posibles diferencias significativas en las prevalencias mensuales, se empleó un análisis de frecuencias aplicando la prueba de heterogeneidad de G a una $P < 0.05$ (Sokal y Rohlf, 1995). Se comparó la longitud cefalotóraxica mensual mediante una prueba de Kruskal Wallis para determinar si existían diferencias significativas, y para detectar cuales meses eran los diferentes se hizo una prueba de rangos múltiples de Duncan. Para detectar si hubo diferencias significativas en la proporción de sexos se utilizó una prueba Chi cuadrada, utilizando la corrección de Yates a una $P < 0.05$. Se graficaron los valores mensuales de abundancia estimada de *Z. penaei* y *Epistylis* sp. para observar su comportamiento temporal.

Los valores de abundancia estimada de cada especie de ectocomensal se agruparon por meses, en tres épocas reconocidas quedando de noviembre a febrero “nortes”, marzo a junio “secas” y julio a octubre “lluvias”. Los datos de abundancia estimada fueron transformados a escala logarítmica base 10 ($\log +1$) con el objeto de normalizar su distribución y homogeneizar su varianza. Se aplicó un ANOVA de dos vías por medio del programa estadístico STATISTICA versión 9 a una $P < 0.05$, para determinar posibles diferencias significativas en el número de ectocomensales entre especies y épocas del año. Se realizó una

prueba de rangos múltiples de LSD para identificar las diferencias en los valores de abundancia estimada de cada especie entre las diferentes épocas y especies.

Para determinar la posible asociación entre los factores fisicoquímicos (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, transparencia, supervivencia y densidad de siembra) con la abundancia estimada de ectocomensales, se utilizó un análisis de regresión lineal múltiple por medio de la técnica de selección de pasos hacia adelante (Sokal y Rohlf, 1995). Se utilizó el valor del coeficiente de determinación de R^2 , para evaluar la eficiencia de la ecuación de regresión lineal múltiple. Todos los datos se procesaron mediante el programa estadístico STATISTICA versión 9 a una $P < 0.05$.

4.5 Resultados

Se examinaron un total de 360 camarones, de los cuales su longitud cefalotóraxica (LC) varió de 1.47 ± 0.04 cm en julio a 2.21 ± 0.30 cm en febrero. La prueba de Kruskal y Wallis arrojó diferencias significativas entre los doce meses muestreados. Los pesos variaron de 1.80 ± 0.57 g en junio a 8.50 ± 0.29 g en abril. En ningún mes se encontraron diferencias significativas en cuanto a la proporción de sexos machos: hembra las cuales se registraron de 0.53:1.47 en julio y de 1.2: 0.8 en diciembre y marzo, (Tabla 7).

Se registraron tres especies de protozoarios ectocomensales *Epistylis* sp., *Zoothamnium penaei* y *Acineta tuberosa* en los camarones cultivados durante los meses de diciembre de 2001 a noviembre de 2002. En la Tabla 8 se muestra la prevalencia y grado de infestación en cada estructura de los camarones infestados a lo largo del año.

Tabla 7. Tallas de longitud cefalotóraxica (LC), peso (g) y sexo de los camarones blancos cultivados *Penaeus vannamei*. Valores superiores \pm Error Estándar. LC = longitud cefalotóraxica.

	N	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov
LC		1.67	1.96	2.21	1.86	2.14	1.61	2.04	1.47	1.77	1.65	1.67	2.11
(cm)	30	± 0.078	± 0.049	± 0.030	± 0.050	± 0.026	± 0.052	± 0.025	± 0.038	± 0.065	± 0.031	± 0.026	± 0.048
Peso		4.96	6.96	6.9	5.53	8.50		1.80		4.51	3.44	4.40	7.96
(g)	30	± 0.42	± 0.42	± 0.33	± 0.38	± 0.29		± 0.57		± 0.16	± 0.20	± 0.29	± 0.25
Sexo(1:1)	30	1.2:0.8	0.6:1.4	0.86:1.24	1.2:0.8	0.73:1.37	0.86:1.24	0.6:1.4	0.53:1.47	1.06:0.94	0.86:1.24	0.93:1.07	1.2:0.8
P =		0.33	0.20	0.70	0.33	0.33	0.70	0.20	0.06	0.94	0.70	0.94	0.50

Tabla 8. Prevalencias (P, %) y grado de infestación (GI) de ectocomensales registrados en diferentes órganos en el camarón blanco *Penaeus vannamei* entre diciembre de 2001 y noviembre de 2002. Pp= Pleópodos, Pe = Pereiópodos, Exo = Exoesqueleto y Bra = Branquias.

Mes	n	<i>Epistylis</i> sp.							<i>Zoothamnium hispida</i>							<i>Acineta tuberosa</i>							
		Pp	GI	Pe	GI	Exo	GI	Bra	GI	Pp	GI	Pe	GI	Exo	GI	Bra	GI	Pp	GI	Pe	GI	Exo	GI
Dic	30	23 ^a	G1	43 ^a	G1	30 ^a	G1	10 ^a	G1														
Ene	30	23 ^a	G1	26 ^a	G1	13 ^a	G1	3 ^a	G1	3 ^a	G1	6 ^a	G1			3 ^a	G1			10 ^b	G1		
Feb	30	43 ^a	G1	53 ^a	G1	13 ^a	G1	4 ^a	G1	33 ^a	G1	33 ^a	G1	73 ^b	G1	6 ^a	G1	6 ^b	G1	3b	G1		
Mar	30	26 ^a	G1	23 ^a	G1	13 ^a	G1	3b ^a	G1			66 ^a	G2	23 ^b	G1	30 ^a	G1			63 ^b	G1		
Abr	30	90 ^a	G2	96 ^a	G2	60 ^a	G1	23 ^a	G1	10 ^a	G2	30 ^a	G2			20 ^a	G1	13 ^b	G1	10 ^b	G1		
May	30	10 ^a	G1	93 ^a	G1	3 ^a	G1	60 ^a	G1	6 ^a	G2	3 ^a	G2			36 ^a	G1			3 ^b	G1		
Jun	30	50 ^a	G1	100 ^a	G1	66 ^a	G1	10 ^a	G1	66 ^a	G1	16 ^a	G1	13 ^b	G1			3 ^b	G1	3 ^b	G1		
Jul	30	73 ^a	G2	73 ^a	G2	53 ^a	G1	16 ^a	G1	46 ^a	G2	40 ^a	G2	26 ^b	G1	13 ^a	G1	10 ^b	G1				
Ago	30	56 ^a	G2	66 ^a	G2	3 ^a	G1	66 ^a	G1	60 ^a	G2	43 ^a	G2	10 ^b	G1	30 ^a	G1	6 ^b	G1	20 ^b	G1		
Sep	30	30 ^a	G2	20 ^a	G2	16 ^a	G1	3 ^a	G1	18 ^a	G2	6 ^a	G2	50 ^b	G1	56 ^a	G1	13 ^b	G1	10 ^b	G1		
Oct	30	53 ^a	G2	53 ^a	G2	33 ^a	G1	23 ^a	G1	60 ^a	G1	53 ^a	G1	26 ^b	G1	3 ^a	G1	23 ^b	G1	33 ^b	G1	7 ^b	G1
Nov	30	83 ^a	G1	33 ^a	G1	73 ^a	G1	30 ^a	G1	43 ^a	G1	30 ^a	G1	26 ^b	G1	26 ^a	G1	10 ^b	G1	36 ^b	G1	5 ^b	G1

a = si hay diferencias significativas entre meses; b = no hay diferencias significativas

Epistylis sp. (Fig. 11) se registró a lo largo de todo el año, la prevalencia más alta con 100% en junio y la más baja en marzo con 33%, siendo los pleópodos la estructura más infestada. Hubo diferencias significativas en las prevalencias entre los 12 meses muestreados, siendo de abril a junio los de mayor prevalencia (G-test; $X^2_{0.095(11)}=97.18$; $P<0.05$).

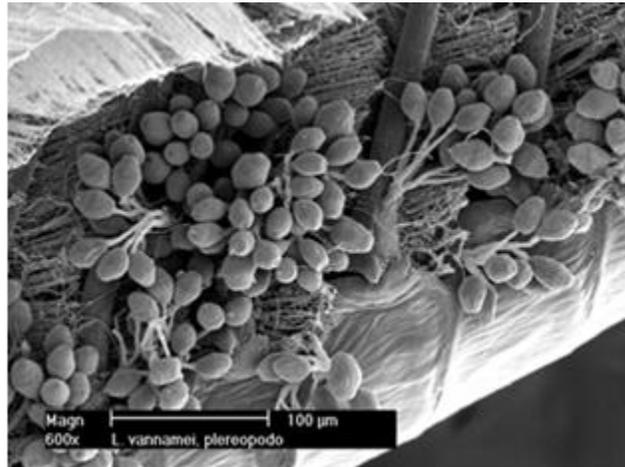


Figura 11. Microscopia electrónica de barrido de *Epistylis* sp. presente en pereiópodos de camarón blanco *Penaeus vannamei*

En el caso de *Zoothamnium penaei* (Fig. 12) el único mes en el que no se registró fue diciembre y su hábitat preferencial fueron los pleópodos. Su prevalencia estuvo entre 10 a 86 % correspondientes a enero y septiembre respectivamente. Al igual, hubo diferencias significativas en la prevalencia entre meses (G-test; $X^2_{0.095(10)}=60.8$; $P<0.05$).



Figura 12. Microscopia electrónica de barrido de *Zoothamnium penaei* presente en los pleópodos del camarón blanco *Penaeus vannamei*

Finalmente, *Acineta tuberosa* se registró en 10 de los 12 meses muestreados. Su prevalencia más alta corresponde a octubre (46%) y la más baja a mayo (20%). En los meses de diciembre y marzo no se presentó. Los pleópodos fueron su hábitat preferencial. Al igual que en los casos anteriores, hubo diferencias significativas en la prevalencia entre meses (G-test; $X^2_{0.095(9)}=52.4$; $P<0.05$).

Al graficar los promedios mensuales de las abundancias estimadas de las especies de protozoarios más prevalentes tales como *Z. penaei* y *Epistylis* sp. a lo largo del año se observa alternancia. Cuando los valores de la abundancia estimada de *Epistylis* sp. aumentaron, bajaron los valores de *Z. penaei* y viceversa (Tabla 9; Fig. 13).

Tabla 9. Abundancias Estimadas (AE) \pm Error Estándar (ES) de ectocomensales encontrados en el camarón blanco *Penaeus vannamei* durante diciembre de 2001 y noviembre de 2002. *Z. penaei*=*Zoothamnium penaei*, *A. tuberosa* = *Acineta tuberosa*

Mes	N	<i>Epistylis</i> sp.	<i>Z. penaei</i>	<i>A. tuberosa</i>
		AE \pm ES	AE \pm ES	AE \pm ES
Nortes	120	37.01 \pm 16.94	0.89 \pm 0.32	0.49 \pm 0.90
Secas	120	59.57 \pm 19.96	0.96 \pm 0.23	0.23 \pm 0.20
lluvias	120	91.20 \pm 18.75	1.68 \pm 0.16	2.02 \pm 0.90

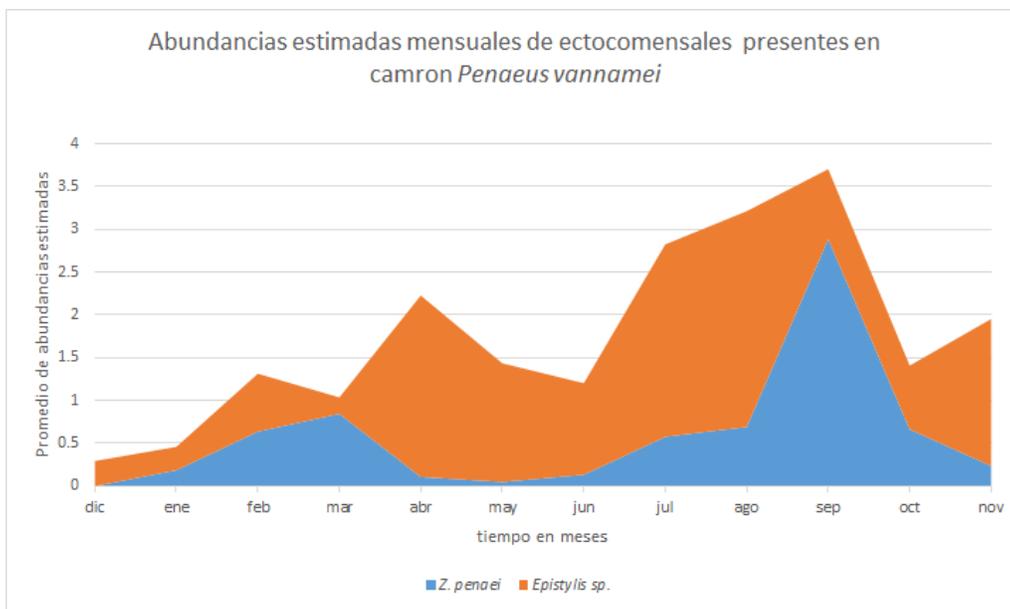


Figura 13. Abundancia estimada mensual de *Zoothamnium penaei* y *Epistylis sp.* en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en granja

Las abundancias promedio se distribuyeron normalmente y no hubo diferencias significativas en las varianzas (test de Cochran, Hartley, Bartlett $P=0.0840$). El resultado del Análisis de varianza de dos vías mostró que la abundancia estimada de los ectocomensales varía significativamente entre épocas y por especie, sin embargo no hubo interacción entre épocas y especies (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados del ANOVA de dos vías entre épocas (nortes, secas, y lluvias) y por especies (*Zoothamnium penaei*, *Epistylis sp.* y *A. tuberosa*).

	Df	MS	Df	MS	F	P-level
Efecto	Efecto	Error	Error			
Época	2	0.914	27.00	0.133	6.898	0.004
Especie	2	6.598	27.00	0.133	49.791	0.000
Época, Especie	4	0.096	27.00	0.133	0.724	0.584

Como se encontraron diferencias significativas entre épocas y especies se aplicó la prueba de rangos múltiples de LSD. Se observó que la abundancia estimada de las tres especies en las épocas de nortes y secas son diferentes entre sí ($P<0.05$). Sin embargo en lluvias no hubo

diferencias significativas entre *Epistylis* sp. y *Z. penaei*, pero ambas son diferentes respecto a los valores de abundancia estimada de *A. tuberosa* (Fig. 14).

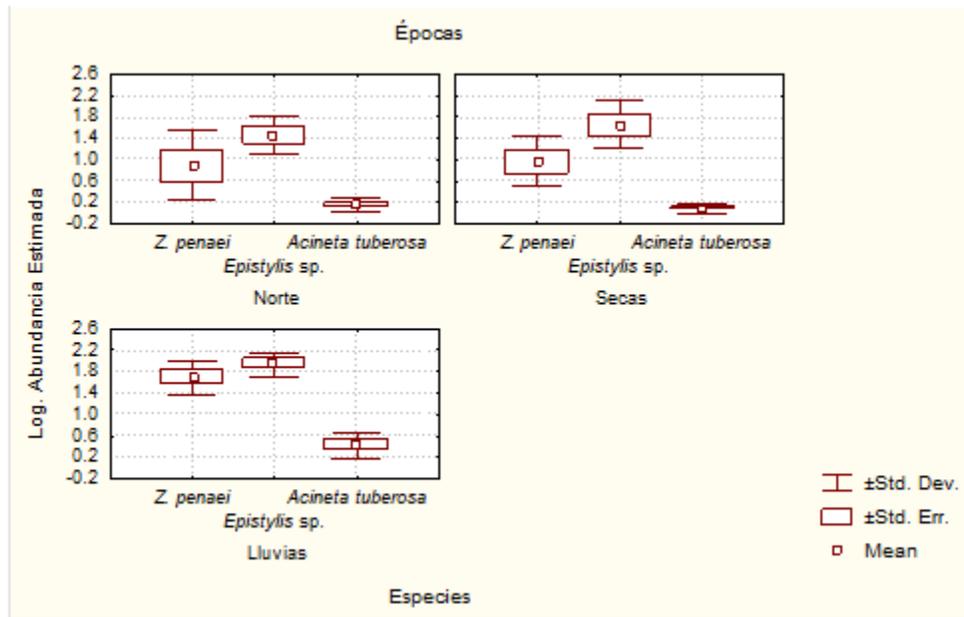


Figura 14. Abundancia estimada de las tres especies de ectocomensales en cuanto a época del año presente en el camarón blanco *Penaeus vannamei*.

Con respecto al análisis de cada especie entre épocas, no hubo diferencias significativas para *Z. penaei* en nortes y secas. Sin embargo, la abundancia estimada de *Z. penaei* en lluvias si fue significativamente mayor respecto a las dos épocas antes mencionadas. Para *Epistylis* sp. no hubo diferencias significativas en las tres épocas del año y *A. tuberosa* no presentó diferencias en las épocas de nortes y secas, siendo ambas diferentes a la época de lluvias en donde hubo valores significativamente más altos ($P < 0.05$) (Fig. 15).

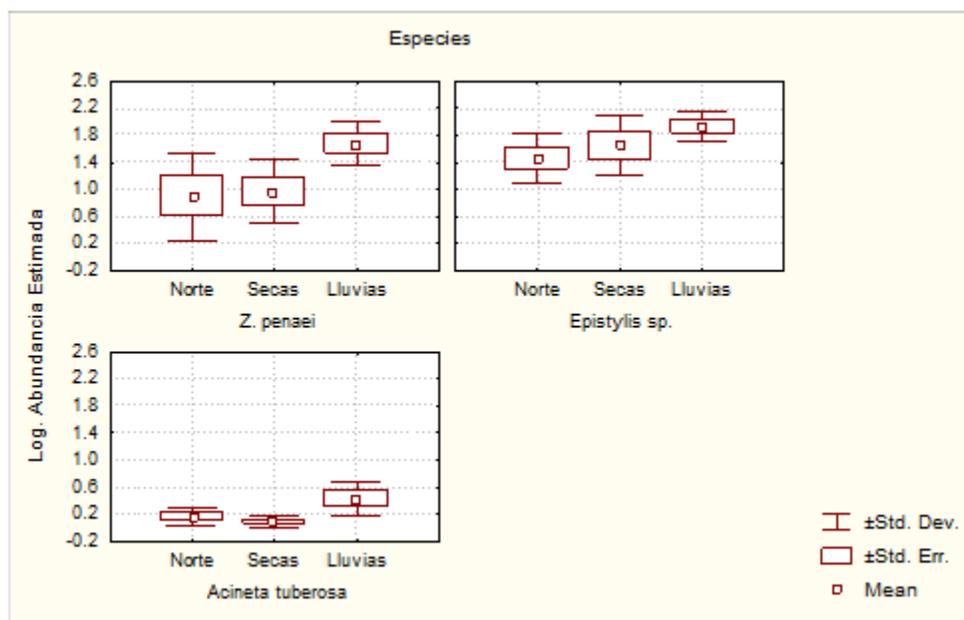


Figura 15. Abundancia estimada de ectocomensales en cuanto a especies presentes en el camarón blanco *Penaeus vannamei*.

En la tabla 11 se muestra los resultados del método de regresión por pasos entre el logaritmo base 10 ($\log + 1.5$) de la abundancia estimada de *Epistylis* sp. y los factores fisicoquímicos. Las variables aceptadas por el modelo fueron temperatura, concentración de oxígeno disuelto y la densidad de siembra. La varianza explicada en el modelo considerando las cuatro variables fue de 14% con una significancia global de $F_{(4,35)}=15.28$.

Tabla 11. Regresión por pasos hacia adelante entre log base 10 ($\log + 1$) de la abundancia estimada de *Epistylis* sp. y Tem = temperatura, Den = densidad de siembra y Oxi = concentración de oxígeno disuelto

Paso	N	Variable	B	R ²	ES	F	df	P
1	360	Tem	-0.43	0.09	0.1161	38.51	1,35	< 0.001
2	360	Den	-0.20	0.13	0.1292	26.85	2,35	< 0.001
3	360	Oxi	-0.13	0.13	0.1351	19.06	3,35	< 0.001

En la tabla 12 se muestran los resultados de la regresión por pasos entre el logaritmo base 10 ($\log +1.5$) de la abundancia estimada de *Z. penaei*, y los factores ambientales antes mencionados. La primera variable aceptada por el modelo fue la temperatura; la varianza explicada fue de 2 %; la concentración de oxígeno disuelto es la segunda variable considerada, en este paso la varianza explicada se incrementó a 4 %. Finalmente la tercera variable es la salinidad donde se obtuvo una varianza explicada del 82 %. La varianza explicada por el modelo considerando las tres variables fue de 9 %, con un valor de $F_{(4,35)}=9.24$.

Tabla 12. Regresión por pasos hacia adelante entre log base 10 ($\log +1$) de la abundancia estimada de *Zoothamnium penae* y Tem = temperatura y Oxi = concentración de oxígeno disuelto.

Paso	N	Variable	B	R ²	ES	F	df	P
1	360	Tem	-0.13	0.02	0.1022	8.73	1,35	< 0.001
2	360	Oxi	-0.18	0.04	0.1022	9.09	2,35	< 0.001

En la tabla 13 se muestra los resultados del método de regresión por pasos entre el logaritmo base 10 ($\log +1$) de la abundancia estimada de *A. tuberosa* y los factores ambientales antes mencionados. Se observa que la primera variable aceptada al por el modelo al igual que las anteriores, corresponde a la temperatura; la varianza explicada fue de 2 %; la concentración de oxígeno disuelto es la segunda variable considerada, en este segundo paso el porcentaje la varianza explicada de 2 %. Finalmente, la tercera variable es la salinidad, con una varianza explicada del 4 %. La varianza explicada por el modelo considerando las tres variables fue del 4 % con una $F_{(3,35)}=3.45$.

Tabla 13. Regresión por pasos hacia adelante entre log base 10 ($\log + 1$) de la abundancia estimada de *Acineta tuberosa* y factores fisicoquímicos. Tem = temperatura, Oxi = concentración de oxígeno disuelto y Sal = salinidad.

Paso	N	Variable	B	R ²	ES	F	df	P
1	360	Tem	0.02	0.01	0.0098	3.97	1,35	< 0.04
2	360	Oxi	0.02	0.02	0.0099	3.71	2,35	< 0.02

4.6 Discusión

El camarón blanco *P. vannamei* fue colonizado a lo largo del año por tres especies de protozoarios ectocomensales, dos de la subclase Peritricha (*Epistylis* sp. y *Zoothamnium penaei*) y una de la clase Suctoria (*Acineta tuberosa*). Se confirmó que existe una relación significativa en la variación temporal de las prevalencias y abundancias estimadas de protozoarios ectocomensales. Las variables ambientales, temperatura y densidad de siembra fueron los factores que más influyeron en la presencia de los ectocomensales.

Epistylis sp. fue el ectocomensal más prevalente y abundante, seguido de *Z. penaei* presentes en los camarones cultivados *P. vannamei* en Sisal, Yucatán. En este trabajo el registro de especies fue similar a lo reportado por Vidal-Martínez *et al.* (2002), se encontraron dos especies de ectocomensales registradas para *P. vannamei*, además de *A. tuberosa*. En este sentido, se confirman los registros y se agrega una especie más: *A. tuberosa* para *P. vannamei*. Sin embargo, los resultados contrastan con los de otros autores que sugieren que *Zoothamnium* es la especie más frecuente y abundante en los camarones en Florida, Louisiana y Texas. Al respecto, Villela *et al.* (1970) encontraron que el 87.5% de *P. duorarum* cultivados en Florida, estaban infectados con *Zoothamnium* sp. Overstreet (1973) observó al igual que *Zoothamnium* sp. fue el ectocomensal más común entre los camarones blancos, café y rosado cultivados en Louisiana y Texas. Fontaine (1985) a su vez observó a *Lagenophrys* sp., *Epistylis* sp. y *Zoothamnium* sp. adheridos a las branquias de *P. setiferus* y *P. aztecus* recolectados en Texas. Olivas-Valdez *et al.* (2010) reportan la presencia de *Zoothamnium* sp., *Epistylis* sp y *Lagenophrys* sp. en las branquias de camarón cultivado en ambientes costeros y dulceacuícolas y que conjunto a enfermedades virales y un manejo deficientes en los estanques causan bajas en la producción de las granjas.

Se observó una alternancia en la presencia de los ectocomensales, cuando las abundancias de *Epistylis* sp. bajaron las de *Z. penaei* aumentaron. Del mismo modo cuando aumentan las abundancias de *Epistylis* sp. bajan las de *Z. penaei*. Esto sucede debido al cambio de la temperatura, es decir, al iniciar (octubre) y finalizar (febrero) el invierno. Cuando los protozoarios coinciden en el nicho ecológico, la competencia es más por el sustrato que por la fuente de alimento. Esto, lleva a una posible interacción interespecífica. Herbert (1987)

mencionó que una infestación mezclada por *Epistylis* sp. y *Zoothamnium* sp. no ha sido observada en *Cherax quadricarinatus* y *C. tenuimanus*. Mientras que Venkatesan *et al.*, (1981) reportan a estos dos ectocomensales presentes en branquias y apéndices de *P. monodon* en cultivo. Será necesario determinar experimentalmente si existe competencia en estos organismos tomando datos específicamente con este propósito. Los protozoarios también se relacionan con la edad o ciclo de vida de sus hospederos, particularmente en la fase de muda. Existe una sincronización entre muda y ciclo de vida de los protozoarios, ya que antes de que los crustáceos muden, se llevan a cabo los procesos de reproducción que producen las fases de los ectocomensales que se implantaran en un nuevo hospedero. En este trabajo se registraron tres estructuras y un órgano utilizado por ectocomensales para adherirse. Se puede considerar como inespecíficos, respecto a su microhabitat, a *Epistylis* sp. y *Z. penaei*, que se observaron en el mayor número de las estructuras (exoesqueleto, pleópodos y pereiópodos) y órganos (branquias). Esto lleva a considerar que las interacciones interespecíficas son posibles. Es común que los protozoarios ectocomensales, particularmente peritricos y suctorias, utilicen la superficie del exoesqueleto, branquias o apéndices, como sustrato (Scott-Thune, 1986; Barrera, 2006; Schuwerack *et al.* 2001). Mayen y Estrada (1997) mencionan que la distribución de los ciliados en sus hospederos se relaciona con la forma y función de los apéndices en los cuales se implantaron. Esta es una posible explicación a la preferencia de microhabitat por parte de los peritricos, ya que los pleópodos, pereiópodos y urópodos, por sus movimientos continuos, producen corrientes en el medio acuático y favoreciendo el aporte ininterrumpido de bacterias y algas que utilizan para alimentarse. Aladro-Lubel *et al.* (1994) mencionan que la amplia distribución de los ciliados en muchos hábitats es debido a su tolerancia o adaptabilidad a amplios rangos de las condiciones fisicoquímicas del ambiente. Schuwerack *et al.* (2001), demostraron que *Zoothamnium* sp y *Epistylis* sp, causan daño por la adhesión de sus pedúnculos al tejido branquial del cangrejo de agua dulce *Potamonautes warreni*, provocando cambios estructurales en las branquias además de causar tasas de crecimiento reducido e incremento en el consumo específico de oxígeno.

Con respecto a la variación estacional, se determinó que la abundancia estimada de *Z. penaei* y *A. tuberosa* fueron significativamente mayores en la época de lluvias. En cuanto a *Epistylis*

sp. no se encontró diferencia significativa en la abundancia estimada entre épocas. Sin embargo, se observó que en nortes y secas las abundancias estimadas de las tres especies de ectocomensales son diferentes entre sí, no ocurriendo lo mismo en la época de lluvias donde se observó que *Z. penaei* y *Epistylis* sp. son diferentes significativamente entre sí. Un punto muy importante, independientemente de las diferencias entre épocas, es la existencia de una relación jerárquica constante. La especie más dominante numéricamente es *Epistylis* sp., seguido de *Z. penaei* y finalmente *A. tuberosa*. La temperatura parece ser el factor más importante asociado; el grado de infestación de *Ascophrys rodor* en *Palaemon serratus* es más rápido a 20°C que a temperatura ambiente (Deroux *et al.*, 1976). Al igual, Couch (1983) evaluó la prevalencia e infestación de *Lagenophrys callinectes* y encontró que el ciliado fue menos frecuente en invierno (diciembre a abril), en el periodo de hibernación de la jaiba y más prevalente en verano coincidiendo con el aumento en la temperatura. Brown *et al.* (1993) encontraron que los cangrejos *Orconectes rusticus* cultivados son más fáciles de infectarse con *Epistylis* sp. en verano, aunque este ectocomensal persiste en invierno. Los resultados soportan lo mencionado anteriormente, en el sentido de que la temperatura y la densidad de siembra son las principales variables que influyen en las dinámicas poblacionales de estos simbioses. Los resultados obtenidos en este estudio, coinciden con los de Bayot *et al.*, (2002), quienes observaron que en época de lluvias (verano) los camarones son más fácilmente infectados, aunque la infección persiste todo el año. Claramente, consistente con la reproducción de los simbioses.

Para *Epistylis* sp., la primera variable aceptada por el ANOVA fue la temperatura, seguida de la densidad de siembra. En *Z. penaei* la primera variable aceptada fue nuevamente la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto fue la segunda variable considerada, seguida de la salinidad. Finalmente para *A. tuberosa* la primera variable aceptada al igual que las anteriores fue la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto fue la segunda variable considerada y finalmente la tercera variable fue la salinidad.

Por lo anterior, se puede afirmar que la temperatura es el principal factor de asociación con respecto a la abundancia de los protozoarios, sin dejar de tomar en cuenta los demás factores fisicoquímicos, ya que muy probablemente al no registrar los rangos óptimos se puede afectar

al cultivo. Los trabajos de Sleigh y Lynn (1985) mencionan que los factores de mayor relevancia para los protozoarios son temperatura, oxígeno disuelto, luz, pH y salinidad. Al igual, Hudson y Lester (1992) encontraron en camarones *Penaeus japonicus* cultivados que existe una correlación positiva entre la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la turbidez y *Zoothamnium* sp., señalando que cuando la calidad del agua decreció aumentó la abundancia de *Zoothamnium* sp. y una correlación negativa entre la temperatura y demanda química de oxígeno (DQO) seguramente por la baja actividad microbiana y aumento en la descomposición de la materia orgánica aunado a la baja temperatura. Estos autores mencionan la densidad de siembra como un factor que puede incrementar el número de los peritricos, ya que en los estanques que muestrearon, uno de ellos poseía 30% más de organismos /m² y en este último se observó mayor infestación de peritricos. Gutiérrez-Salazar (2011) ha trabajado con la presencia de parásitos en camarones cultivados y relacionarlos con los factores fisicoquímicos, siendo que para *Epistylis* sp. la relación más cercana fue con la concentración de oxígeno disuelto y para *Zoothamnium* sp. fue el pH.

De acuerdo con lo anterior, para reducir las infestaciones por ectocomensales, Kautsky *et al.* (2000), proponen dos diferentes estrategias en el manejo de granjas de camarón. La primera es disminuir la densidad de siembra y la segunda a través de un tratamiento de recirculación del agua, y esterilización de los estanques, para reducir las infestaciones por estos organismos en especial en las épocas de secas y lluvias. Particularmente, se coincide con lo propuesto por Herbert (1987), quien estudio enfermedades y epibiontes de *Cherax quadricarinatus* en Australia, opina que es necesario realizar estudios de los periodos de incubación, modos de transmisión y medidas efectivas de cuarentenas para evitar mortalidad por estos organismos en altas concentraciones.

Desde los años 60's existen estudios que reportan muerte de camarones, cangrejos o jaibas por altas infestaciones de *Zoothamnium* en branquias, en conjunto con bajas concentraciones de oxígeno, altas temperaturas, infecciones por endoparásitos, hacinamiento y daño mecánico. Estos factores claramente pueden contribuir a una anoxia (Couch, 1966, Johnson, 1972; Lightner y Fontaine, 1975; Fisher, 1977).

Por lo tanto, la relación entre el estrés del camarón y los ectocomensales es más compleja de lo que muchos suponen, ya que no solo se debe tener en cuenta el grado de infestación sino también factores como densidad de siembra, temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, turbidez, materia orgánica, actividad microbiana, pH, amonio, para conocer las posible influencia sobre abundancia estimada y grado de infestación de los peritricos y si estos afectan la supervivencia del hospedero, sin dejar a un lado las buenas prácticas de manejo del estanque y de la granja, porque solos o en conjunto pueden causar bajas en la producción.

CAPÍTULO 5: Estudio de la posible presencia de virus en camarones silvestres y cultivados en el sur del Golfo de México

5.1 Introducción

En las últimas tres décadas las enfermedades causadas por virus han puesto en alerta a los productores de camarón de todo el mundo ya que las pérdidas ascienden en algunos casos hasta el 100% de su producción. Por ejemplo, en los años 80's en el Pacífico mexicano se cultivaba el camarón azul *Penaeus stylirostris*. Sin embargo, la introducción de organismos traídos de Hawái en 1987 infectados con el virus Penstydensovirus (PstDV1), ocasionó serios problemas epizooticos a las granjas camaroneras de los estados de Sonora y Sinaloa (Lightner, 1996a; Galaviz-Silva y Molina-Garza, 2014). Pantoja y Lightner (1993) trabajaron con poblaciones silvestres de camarones y encontraron 50% de prevalencia de PstDV1 en el norte del Golfo de California. Lightner *et al.* (1994), mencionan que el PstDV1 se encuentra ampliamente distribuido en diferentes localidades de la costa oeste del continente americano en las poblaciones silvestres. Al observar que en el camarón blanco *P. vannamei* no ocasionaba la muerte, fue considerado resistente a PstDV1. Sin embargo, este virus le ocasiona el síndrome de la deformidad (Runt Deformity Síndrome por sus siglas en inglés, RDS) reduciendo su intervalo de crecimiento y deformando el rostro, antenas, tórax y abdomen, ocasionando en promedio un 30% de perdidas (Lightner, 1996a; Cuellar-Anjel, 2013).

A mediados de 1992, en Ecuador fue descubierto el Síndrome de Taura (Taura Síndrome Virus, por sus siglas en inglés, TSV) (Lightner, 1995). Esta es una de las enfermedades económicamente más significativas que han afectado al camarón blanco cultivado *P. vannamei* en América. De 1992 a 1996 en América se estimó una pérdida entre 1.2 y 2 billones de dólares por año por causa de este virus (Lightner, 1996; Hasson, 1998). La enfermedad se distribuyó rápidamente de granja en granja por vectores tales como insectos acuáticos (Hasson *et al.*, 1995; Lightner *et al.*, 1997) o por el excremento de aves marinas (Garza *et al.*, 1997; Galaviz-Silva y Molina-Garza, 2014). En el resto de América la principal forma de transmisión fue por la exportación de camarones infectados (para cultivo o reproductores), congelados para maquila o consumo humano (Overstreet *et al.*, 1997; Zarain-Herzberg y Ascencio-Valle, 2001; Lightner y Chen, 2002; Zarain-Herzberg *et al.*, 2003).

En México TSV se ha detectado desde Chiapas hasta Sonora en el Pacífico mexicano (Wigglesworth, 1994; Lightner, 1996; Hasson *et al.*, 1999; Zarain-Herzberg *et al.*, 2003), y se ha reportado en el estado de Yucatán en el Golfo de México (Erickson *et al.*, 2002; De la Rosa-Vélez y Bonami, 2002).

En 1993, en Taiwán se documentó por primera vez el Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV). Este virus afectó el camarón tigre *P. monodon*, camarón japonés *Marsupenaeus japonicus*, chino blanco *Fenneropenaeus chinensis* y al langostino banana *F. merguensis* (Chu-Fang, 1998). En 1995 se reportó por primera vez en el continente americano en el estado de Texas en noviembre de 1995 (Lightner, 1996).

Se reportó en 1999 la presencia WSSV en Estados Unidos, América Central y Sudamérica (Lightner y Chen, 2002). Lightner (1996), considera que la diseminación principal de la enfermedad se ocasionó con la introducción de postlarvas para cultivo. En México la mayor parte de la producción acuícola de camarón se concentra en el noreste, por lo que no es de extrañar que el virus haya ingresado por esa vía en 1999, existen reportes de que algunos productores perdieron del 80 al 100% (COAES, 2012; 2014).

Mancha blanca tiene más de 100 hospederos para técnicos o vectores. Este es un virus que afecta a crustáceos que viven en aguas dulces, salobres y marinas y pueden infectar también a poliquetos, bivalvos, rotíferos, larvas de insectos y hasta microalgas, que pueden llegar a acumular elevadas cargas virales, actuando como vectores mecánicos (Liu *et al.*, 2007).

En México, para reducir los riesgos sanitarios relacionados con la introducción de enfermedades en organismos acuáticos, se puso en operación desde 1992, el Programa de Sanidad Acuícola, que tiene como actividad fundamental regular y controlar importaciones, exportaciones y la movilización de organismos acuáticos vivos para evitar la transfaunación y propagación de agentes patógenos. Adicionalmente, se persigue prevenir, identificar y controlar las enfermedades que afecten a las poblaciones cultivadas y naturales (Dir. Gral. de Acuicultura, 1997). Se han generado ordenamientos técnicos y jurídicos a través de sus

Normas Oficiales Mexicanas NOM-011-PESC-1993, NOM-020-PESC-1993, NOM-022-PESC-1994 y NOM-EM-001-PESC-1999. Esta última establece los requisitos y medidas para prevenir y controlar la introducción y dispersión de las enfermedades virales denominadas mancha blanca y cabeza amarilla. NOM-030-PESC-2000 que establece los requisitos para determinar la presencia de enfermedades virales de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos o subproductos en cualquier presentación y *Artemia* (*Artemia* spp.), para su introducción al territorio nacional y movilización en el mismo.

El sureste de México y todo el Golfo de México, es necesario contar con estudios de monitoreo para poder conocer el estado sanitario tanto de organismos cultivados como silvestres. Esto es especialmente importante porque el camarón *P. vannamei* a cultivar, son transportados de zonas reconocidas como endémicas para enfermedades tales como la mancha blanca y el síndrome de Taura. Tal es el caso de los camarones que actualmente se cultivan en los estados que colindan con el Golfo de México. En vista del riesgo de introducción de enfermedades exóticas que pudieran afectar a camarones nativos, es necesario llevar a cabo estudios que nos permitan conocer el estatus sanitario de los camarones nativos y cultivados en la región. En este sentido, Jiménez-Cueto (1999) estudió algunas localidades del estado de Yucatán, utilizando la técnica de Hibridación in situ para la detección de PstDV1 y Taura. Sus datos mostraron que los camarones silvestres *P. duorarum*, *P. brasiliensis*, *P. aztecus* y cultivados *P. vannamei* no tenían virus.

En otro estudio en el Golfo de México, por Chávez-Sánchez *et al.* (2002), tampoco se detectaron virus en los camarones silvestres *P. setiferus*, *P. duorarum* y *P. aztecus*. Estos organismos fueron capturados en los estados de Tamaulipas, Veracruz y Campeche. Del mismo modo, tampoco se detectaron virus en camarones *P. vannamei* cultivados en Tamaulipas.

Esto lo corroboró Del Río *et al.* (2013) en camarones silvestres *P. setiferus* capturados en la Laguna de Términos, Campeche, al no detectar virus.

Un estudio realizado en el 2008 a las granjas de camarón en cinco estados que colindan con el Golfo de México, se detectó PstDV1 en los estados de Tamaulipas y Tabasco (López-Téllez *et al.* 2015).

Hernández-Pérez *et al.* (2017) mencionan la presencia de PstDV1 en la Península de Yucatán en camarón *P. notialis* y *P. brasiliensis* con prevalencias de 18.18% en 2016 a 8.57 % en 2017.

Las principales limitantes de los anteriores estudios fueron los tamaños de muestra. Por tal razón, en este capítulo se presentan los resultados de un estudio de monitoreo de cuatro virus en camarón cultivado *P. vannamei* y silvestres *P. duorarum*, *P. brasiliensis*, *P. aztecus*, *X. kroyeri*, *S. brevisrostris* y *P. setiferus*, en la costa sur del Golfo de México.

5.2 Hipótesis

Los virus PstDV1, WSSV, TSV e YHV se encuentran presentes en camarones silvestres y cultivados en los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo.

5.3 Objetivos

a) Detectar si hay presencia de los virus PstDV1, YHV, WSSV y TVS en los camarones silvestres de *P. brasiliensis*, *P. duorarum*, *P. aztecus*, *P. setiferus*, *X. kroyeri* y *S. brevisrostris* y cultivado *P. vannamei*.

b) Identificar los daños histológicos causados por la presencia de estos virus en los camarones analizados.

5.4 Material y Método

En el 2005, se recolectaron las muestras de camarones silvestre de las especies *P. brasiliensis*, *P. duorarum*, *P. aztecus*, *P. setiferus*, *X. kroyeri* y *S. brevisrostris*, en la costa desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau Quintana Roo y en la Sonda de Campeche. El camarón *P. vannamei* cultivado en granjas durante 2013 de los estados de Veracruz (3), Tabasco (25), Campeche

(1) y Yucatán (2). Adicionalmente, se tomaron durante un ciclo anual de diciembre 2001 a noviembre 2002 muestras mensuales de *P. vannamei* (360 camarones), de una granja de camarón en Sisal, Yuc.

a) Los camarones silvestres de zona costera. Se colectaron en 2005 30 organismos por especie de 22 localidades que van desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo. Dando un total de 1,380 camarones.

b) Los camarones silvestres de alta mar se colectaron durante un crucero efectuado en 2005, en la Sonda de Campeche con 25 estaciones de muestreo las cuales se muestran en la Tabla 15. Se capturaron aleatoriamente un total de 30 camarones de cada especie capturada, fijando 900 organismos de las 25 estaciones, las profundidades oscilaron de 3.1 a 84.1 m.

c) Los camarones cultivados se colectaron en el año 2013, a razón de 30 camarones *P. vannamei* por lote introducido por granja activa, tres granjas de Veracruz, 25 granjas de Tabasco, una de Campeche y una de Yucatán para un total de 900 camarones. De diciembre del 2001 a noviembre del 2002 se realizó un muestreo mensual en otra granja de Yucatán, en la cual se capturaron un total de 360 camarones (Tabla 16),

El tejido seleccionado (cefalotórax en silvestres y hemolinfa en cultivados) fue fijado y preservado en etanol al 96% (Lightner, 1996). Los 30 camarones fijados se agruparon en seis pools (cada pool contiene cinco camarones por localidad y por especie). Para la extracción de ADN se tomaron 25 mg de cefalotórax o hemolinfa según el caso utilizando el kit comercial High Pure, Roche Promega ®. Para la extracción de ARN, se utilizó el kit de extracción comercial High Pure Roche PROMEGA ®. Como parte del protocolo se estableció que las muestras que resultarán positivas a virus se les realizó el análisis individual de ADN para obtener la prevalencia mensual.

La prueba de PCR se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas: **1) desnaturalización 2) hibridación y 3) extensión** (Fig. 16). A cada una de las corridas en

PCR se agregó un control negativo, un control positivo y en el caso de ADN virus un control interno. Para amplificar fragmentos de ARN se utilizaron técnicas de retro transcripción inversa (Turner *et al.* 1998; Mas *et al.* 2001; Gibello *et al.* 2001). Para las pruebas de PCR se utilizó de manera indistinta el kit comercial Diagxotics®, que codifica a 347 pares de bases (pb), y/o el kit comercial IQ2000™ que codifica a 640 pb y 438 pb. Cada kit tiene un programa establecido de temperaturas, ciclos y tiempos de reacción (Tomado de protocolos del kit comercial PstDV1, WSSV, YHV y TSV).

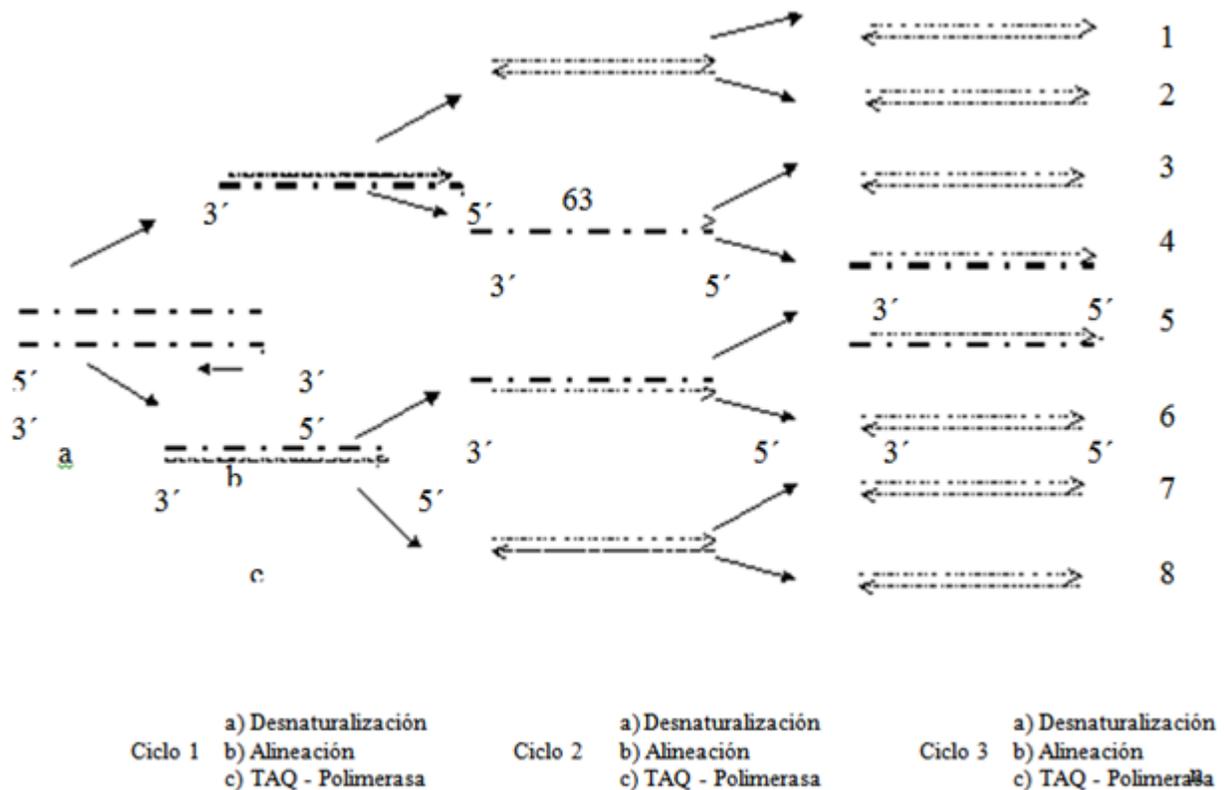


Figura 16. Amplificación exponencial a partir de un fragmento de ácido desoxirribonucleico, molde tras una serie de ciclos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Modificado por Mas *et al.* 2001)

Posteriormente, la detección del producto de PCR se obtuvo mediante la visualización de las bandas de ADN o ARN en geles de agarosa al 2% pre teñido con Bromuro de Etidio al 0.01% (Tomado de protocolos del kit comercial PstDV1, WSSV, YHV y TSV). A través de un aparato de electroforesis horizontal (Bio-Rad) a 80V/100 min aproximadamente, las bandas se compararon con un marcador de peso molecular de 50 pares de bases (pb) que corre paralelamente a las muestras. Esto se llevó a cabo con ayuda de un transluminador.

Para la detección de ARN virus se utilizó un kit simple (Diagxotics®), que codifica a las 230 pb para TSV y a las 270 pb para YHV. Para los ADN virus se utilizó un kit doble (Diagxotics®) que codifica a los 603 pb y con control interno del ADN, 401 pb para WSSV y 347 pb para PstDV1. Se tomó como criterio positivo la aparición de bandas en la región específica para cada virus.

Secuenciación y análisis filogenético: Los productos de PCR fueron secuenciados en ambas direcciones de la secuencia del ADN, los cuales se alinearon usando ClustalX (2.0.12) (Thompson *et al.* 1997). BLAST las investigaciones fueron realizadas para identificar los homologos de las secuencias de ADN en el Banco Genómico (GenBank™ sequence datasets) (NCBI, 2018).

Árbol filogenético: La homología de la secuenciación fue usada para construir el árbol filogenético. Este fue hecho usando la probabilidad máxima del método basado en el modelo del tiempo General Reversible (Nei y Kumar, 2000). El árbol tiene altas probabilidades logarítmicas (-1015.76). El árbol inicial por la búsqueda heurística se obtuvo automáticamente por aplicación de algoritmo de unión de vecinos y BioNJ con la estimación de la matriz de pares a distancia usando los Máximos componentes probables (MCL), y por la selección topológica con la probabilidad más alta del valor de logaritmos. El análisis incluyó nueve nucleótidos secuenciales, 1st+2nd+3rd+ posiciones del codón no codificantes fueron incluidos. El análisis realizados fue con MEGA7 (Kumar *et al.* 2016).

El procedimiento histológico consistió en cinco pasos: 1) fijación, 2) deshidratación, 3) cortes, 4) tinción e 5) interpretación. Fue necesario hacer tinciones especiales como Hematoxilina-Feulgen, lo cual se explica ampliamente en el capítulo 2.

5.5 Resultados

5.5.1 Reacción en Cadena de la Polimerasa

No se detectó ninguno de los tres virus (TSV, YHV y WSSV) en las muestras procesadas con base en la no amplificación de los productos esperados y visualizados en los geles de agarosa al 2%, para los camarones silvestres *P. brasiliensis*, *P. duorarum*, *P. aztecus* *X. kroyeri*, y *S. brevirostris*, así como para el camarón blanco *P. vannamei* cultivado.

a) **Camarones silvestres de la zona costera:** se detectó PstDV1 en tres puntos de muestreo: En Dos Bocas se halló en el camarón café (*P. aztecus*) con una prevalencia de 67% y en el siete barbas (*X. Kroyeri*) con prevalencia de 60%. En Barra de dos Bocas y Barra Chiltepec se encontró en el camarón café (*P. aztecus*) con 83% y 67% de prevalencia respectivamente y en el camarón rosado (*P. duorarum*) con 53% y 60% de prevalencia respectivamente (Tabla 14).

b) **Camarones silvestres de alta mar:** todos los organismos colectados en la Sonda de Campeche resultaron negativos a los virus PstDV1, WSSN, YHV y TSV (Tabla 15).

c) **Camarones de granja:** en el muestreo del 2013, se detectó el virus PstDV1 en dos granjas del estado de Veracruz (una en Boca del Río y otra en Alvarado), con prevalencias del 33% cada una. En cuatro granjas en el Municipio de Cárdenas, Tabasco, se detectó el virus en dos granjas. La prevalencia fue de 33%, en una fue de 66% y en la cuarta granja del 100% (Tabla 16).

Tabla 14. Camarones silvestres capturados en la zona costera, en 22 localidades desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo. Localización Geográfica. Número de organismos fijados por especies

No.	Localidad	Latitud	Longitud	No.	Especie
Campeche					
1	Nuevo Campechito, Camp.	18°39'03''	92°28'08''	15	<i>P. aztecus</i> y <i>P. setiferus</i>
2	Punta Zacatal; Camp.	18°45'00''	92°00'00''	15	<i>P. aztecus</i> y <i>P. setiferus</i>
3	Punta Zacatal, Camp.	18°40'17''	91°53'36''	26	<i>P. aztecus</i> y <i>P. setiferus</i>
4	Isla Aguada, Camp.	18°47'03''	91°30'56''	20	<i>P. aztecus</i> y <i>P. setiferus</i>
5	Champotón, Camp.	19° 21'30''	90°43'24''	22	<i>P. aztecus</i> , <i>X. kroyeri</i> y <i>P. setiferus</i>
6	Lerma, Camp.	19°48'55''	90°36'00''	30	<i>P. aztecus</i> , <i>P. duorarum</i> y <i>P. setiferus</i>
Quintana Roo					
7	Yalahau, Q. Roo	21°36'	88°09'	30	<i>P. brasiliensis</i>
Tabasco					
8	Isla Chayote-lag. Carmen Sánchez Magallanes, Tab.	18°18'09''	93°50'53''	62	<i>P. atecus</i> y <i>P. setiferus</i>
9	Barra de Tupilco, Tab.	18°25'00''	93°29'13''	39	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>

Continuación de la tabla 14:

10	Dos Bocas, Tab.	18°26'57''	93°12'26''	30	<i>P. aztecus</i> y <i>X. Kroyeri</i>
11	Barra de dos Bocas, Tab.	18°26'30''	93°08'41''	30	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
12	Barra Chiltepec, Tab.	18°26'28''	93°05'27''	31	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
13	Punta Buey Frontera, Tab.	18°36'39''	92°41'46''	14	<i>P. aztecus</i> y <i>X. Kroyeri</i>
Veracruz					
14	Alvarado, Ver.	18°47'31''	95°44'53''	21	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
15	Las Barrillas, Ver	18°11'42''	94°35'48''	40	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
16	Malecón Coatzacoalcos, Ver.	18°09'30''	94°24'42''	17	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
17	Tonalá, Agua dulce, Ver.	18°12'43''	94°07'50''	15	<i>P. aztecus</i> y <i>P. duorarum</i>
Yucatán					
18	Celestún, Yuc.	21°00'00''	90°30'00''	30	<i>P. aztecus</i> , <i>P. duorarum</i> y <i>P. setiferus</i>
19	Celestún, Yuc.	20°44'53''	90°26'16''	30	<i>P. aztecus</i> , <i>P. duorarum</i> , <i>P. brasiliensis</i> y <i>P. setiferus</i>
20	Sisal, Yuc.	21° 10'	90°02'	60	<i>P. duorarum</i> y <i>P. brasiliensis</i>
21	Chabihau, Yuc.	21 21'	89°06'	30	<i>P. brasiliensis</i>
22	Ria Lagartos, Yuc.	21°26'	88°13'	30	<i>P. brasiliensis</i>

Tabla 15. Camarones silvestres capturados en la zona marina, en 22 localidades desde Alvarado, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo. Localización Geográfica. Número de organismos fijados por especies.

No.	Estación	Latitud	Longitud	No.	Especie
1	A	18°43'19"	93°02'30"	30	<i>P. aztecus</i>
2	B	18°30'99"	92°58'24"	30	<i>P. aztecus</i>
3	C	18°45'73"	93°28'88"	30	<i>P. aztecus</i>
4	D	18°14'73"	94°15'05"	30	<i>P. aztecus</i>
5	E	18°18'35"	93°58'99"	30	<i>P. aztecus</i>
6	F	18°14'90"	94°26'07"	30	<i>P. aztecus</i>
7	G	18°45'47"	92°28'42"	30	<i>P. setiferus</i>
8	H	18°46'29"	92°15'47"	30 (30) (30)	<i>P. setiferus</i> , <i>P. aztecus</i> y <i>X. kroyeri</i>
9	I	18°48'59"	92°04'36"	30	<i>P. setiferus</i>
10	J	18°56'42"	91°59'58"	30 (30)	<i>P. setiferus</i> y <i>P. aztecus</i>
11	K	18°52'04"	92°24'49"	30 (30)	<i>P. setiferus</i> y <i>P. duorarum</i>
12	L	18°56'00"	92°12'18"	30	<i>P. setiferus</i>
13	M	18°59'82"	91°59'48"	30 (30)	<i>P. setiferus</i> y <i>P. duorarum</i>
14	N	19°03'37"	91°52'95"	30	<i>P. duorarum</i>
15	O	19°03'77"	92°08'14"	30	<i>P. duorarum</i>
16	P	19°00'62"	92°21'88"	30	<i>P. aztecus</i>
17	Q	19°10'62"	92°37'26"	30	<i>P. aztecus</i>
18	R	19°09'11"	92°32'68"	30	<i>P. aztecus</i>
19	S	19°14'23"	92°31'09"	30	<i>P. aztecus</i>
20	T	19°14'96"	91°50'11"	30	<i>P. duorarum</i>
21	U	19°23'33"	91°40'27"	30	<i>P. aztecus</i>
22	V	19°22'07"	91°54'99"	30	<i>P. duorarum</i>
23	W	19°42'87"	91°30'13"	30	<i>P. duorarum</i>
24	X	19°28'18"	91°30'77"	30	<i>P. duorarum</i>
25	Y	22°28'64"	87°30'63"	30	<i>S. brevis</i>

Tabla 16. Localización geográfica de las granjas de camarón muestreados en los estados de Campeche, Tabasco, Veracruz y Yucatán.

No.	Localidad	Latitud	Longitud	Prevalencia
	Campeche			
1	Champotón	19°17'771"	90°45'943"	
	Tabasco			
2	Cárdenas	18,13, 5.052	-93,47,25.116	(33%)
3	Cárdenas	18,18,19.656	-93,42,14.940	
4	Cárdenas	18,18,14.508	-93,42, 7.164	
5	Cárdenas	18,18, 0.648	-93,42,15.336	
6	Cárdenas	18,17,52.584	-93,41,31.128	
7	Cárdenas	18,17, 3.588	-93,41,22.200	
8	Cárdenas	18,17, 3.588	-93,41,22.200	
9	Cárdenas	18,16,25.536	-93,36,53.892	
10	Cárdenas	18,16,18.084	-93,37, 6.204	(33%)
11	Cárdenas	18,17,25.836	-93,42,39.600	
12	Cárdenas	18,17,19.140	-93,39,53.820	
13	Cárdenas	18,17,23.604	-93,42,24.876	
14	Cárdenas	18,16,53.832	-93,39,44.424	
15	Cárdenas	18,18,17.640	-93,40,16.068	(66%)
16	Cárdenas	18,21, 1.368	-93,32,39.912	
17	Cárdenas	18,17,21.876	-93,44,44.844	(100%)
18	Cárdenas	18,17,17.988	-93,39,33.264	
19	Cárdenas	18,18,44.712	-93,45, 4.680	
20	Cárdenas	18,19,29.100	-93,43,51.780	
21	Cárdenas	18,24,58.680	-93,21,43.560	
22	Cárdenas	18,18,45.252	-93,43,28.344	
23	Cárdenas	18,18,32.004	-93,43,22.692	
24	Cárdenas	18,13,13.764	-93,47, 8.736	
25	Cárdenas	18,18, 0.000	-93,42,54.576	
26	Cárdenas	18,18,24.120,	-93,42,21.456	
	Veracruz			
27	Boca de Río	19°05'653"	96°08'301"	(33%)
28	Alvarado	18°49'839"	95°52'484"	(33%)
	Alvarado	18°54'187"	95°56'285"	
	Yucatán			
29	Sisal	21°36',32''	87°32'	(66%)
30	Sisal	21°36',32''	87°32'	(100%)

Durante el muestreo del ciclo anual (dic 2001 a nov 2002) en la granja de Yucatán, se detectaron camarones blancos del Pacífico como positivos en los meses de marzo, abril, junio, julio, agosto, septiembre y octubre (Fig. 17).

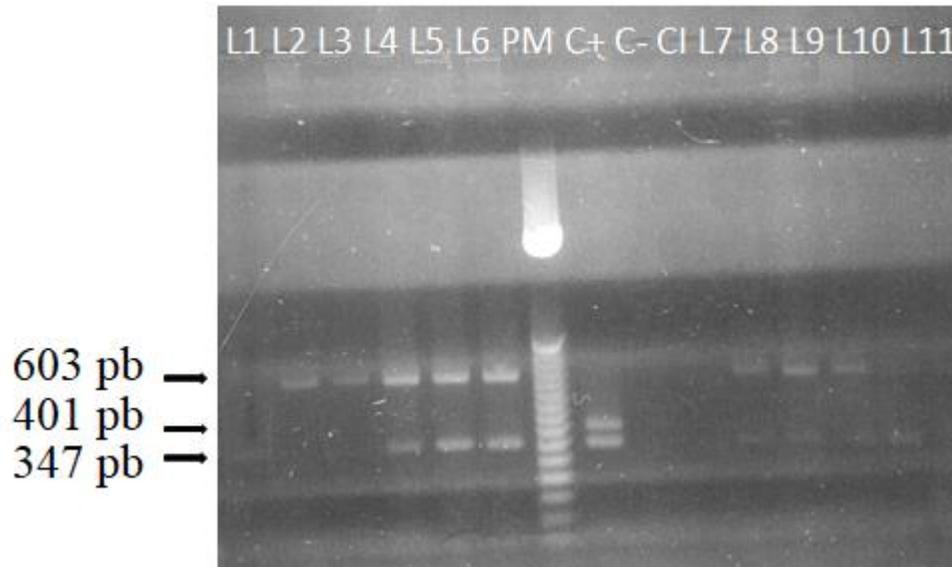


Figura 17. Resultados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de Penstydensovirus (PstDV1, 401 pb), mancha blanca (WSSV, 347 pb) y Control Interno (CI, 603 pb) de las muestras de los camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivados. PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo y Ci=control interno, L1=diciembre 2001, L2=enero 2002, L3=marzo 2002, L4=abril 2002, L5=mayo 2002, L6=junio 2002, L7=julio 2002, L8=agosto 2002, L9=septiembre 2002, L10=octubre 2002, L11=noviembre 2002

Para verificar que las muestras positivas corresponden a PstDV1 se procedió a realizar otro gel con muestras positivas de este virus y compararlas con WSSV (Fig. 18) en las líneas 1 y 2 se muestran los camarones positivos de PstDV1 que se obtuvieron del mes de junio y en la línea 3 la muestra de un camarón positivo de WSSV obtenido de una granja de Sinaloa.

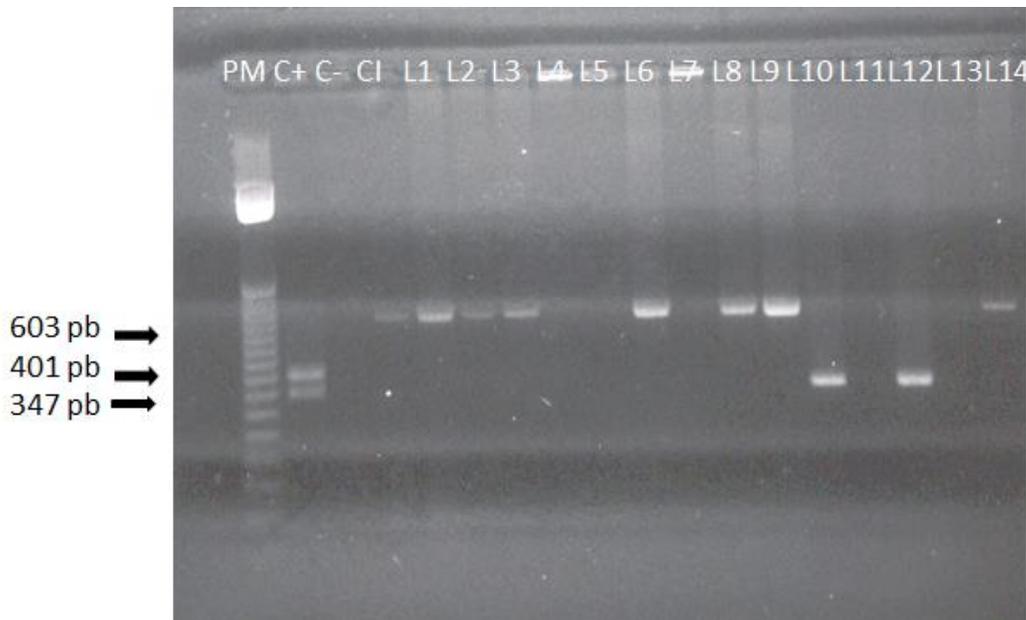


Figura 18. Resultados de la Reacción en Cadena de l Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de los virus Penstlydensovirus (PstDV1, 401pb), mancha blanca (WSSV, 347pb) y Control interno (CI, 603 pb) de las muestras individuales de los camarón blanco *Penaeus vannamei*. PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo y CI=control interno. L1 a L14 son los camarones individuales

5.5.2 Secuenciación del ADN-PstDV1

La secuenciación del ADN a 320 bp fue amplificada de cada organismo positivo por PCR (Fig. 19). La prueba de PCR utilizada fue de NeHInF F y R primers que muestran el 100% de sensibilidad y especificidad ($P \leq 0.05$). La secuencia del ADN fue homologado (94 al 99%) con 103 secuenciaciones de ADN reportados en el banco genómico (GenBank™) con coberturas que van de 78 al 82%. La alta homología fue observada para PstDV1 tanto en las muestras de camarones silvestres como cultivados tomadas del Océano Pacífico Mexicano, Filipinas, China, Estados Unidos de América, Taiwán, Hawái, Ecuador, Tailandia, Corea, Corea del Sur, Vietnam, Brasil y Venezuela.

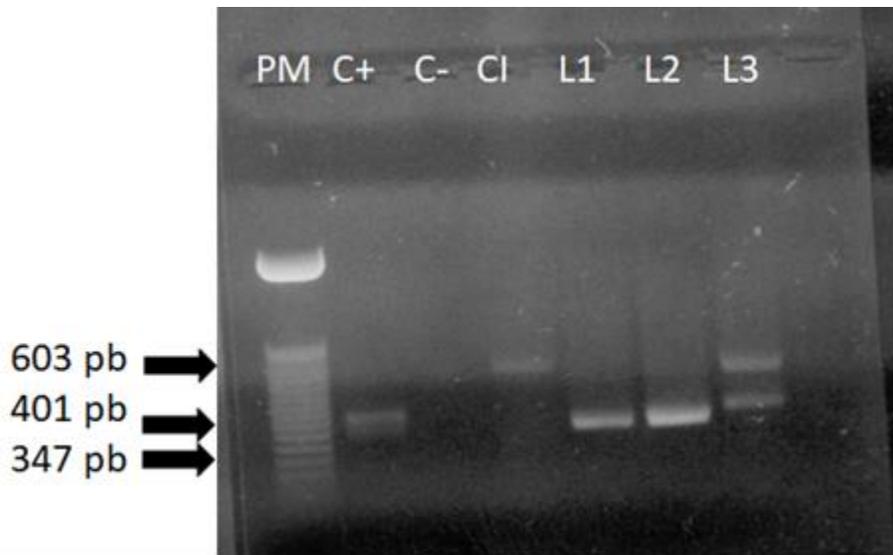


Figura 19. Resultados de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, punto final) para la presencia de los virus Penstyldenovirus (PstDV1, 401pb) y mancha blanca (WSSV, 347 pb) de las muestras de camarón blanco cultivado *Penaeus vannamei*. PM=peso molecular, C+=control positivo, C-=control negativo CI=Control interno. L1 y L2 Positivos PstDV1y L3 positivos WSSV

La evaluación de la relación genética de las secuencias de los ADN mexicanos reportados en el Golfo de California, ayudaron para construir el árbol filogenético con la secuenciación de los cinco ADN, mostrando la distancia más cercana (98-99%) (1-2 variación de nucleótidos). En este caso, 98-99% fueron similares a PstDV1. Se aisló el gen de la proteína del cápside del virus que describe al del Pacífico mexicano CU21, CU23, CU25, CU31 y CU37 (Tabla 17).

Tabla 17. Cobertura y porcentaje de similitud de las secuencias de los estudios con los que se tiene homología en el banco genómico (GenBank™)

	DESCRIPCION	COBERTURA	SIMILITUD	REFERENCIA
GU906959.1	Penstyldensovirus (PstDV1) aislar CU37 gen de la proteína del cápside, parcial cds	82%	99%	Robles-Sikisaka <i>et al.</i> (2010)
GU906956.1	Penstyldensovirus (PstDV1) aislar CU31 gen de la proteína del cápside, parcial cds	82%	99%	Robles-Sikisaka <i>et al.</i> (2010)
GU906952.1	Penstyldensovirus (PstDV1) aislar CU23 gen de la proteína del cápside, parcial cds	82%	99%	Robles-Sikisaka <i>et al.</i> (2010)
GU906953.1	Penstyldensovirus (PstDV1) aislar CU25 gen de la proteína del cápside, parcial cds	82%	99%	Robles-Sikisaka <i>et al.</i> (2010)
GU906951.1	Penstyldensovirus (PstDV1) aislar CU21 gen de la proteína del cápside, parcial cds	82%	98%	Robles-Sikisaka <i>et al.</i> (2010)

5.5.3 Histología

Para los análisis histológicos se fijaron 780 camarones (360 *P. vannamei*, 300 *P. brasiliensis* y 120 *P. duorarum*), haciendo un total de 2,340 casetes (3 casetes por camarón) y analizando branquias, hepatopáncreas, intestino y músculo. No se observaron inclusiones virales en la epidermis (Fig. 20) y el cordón nervioso (Fig. 21).

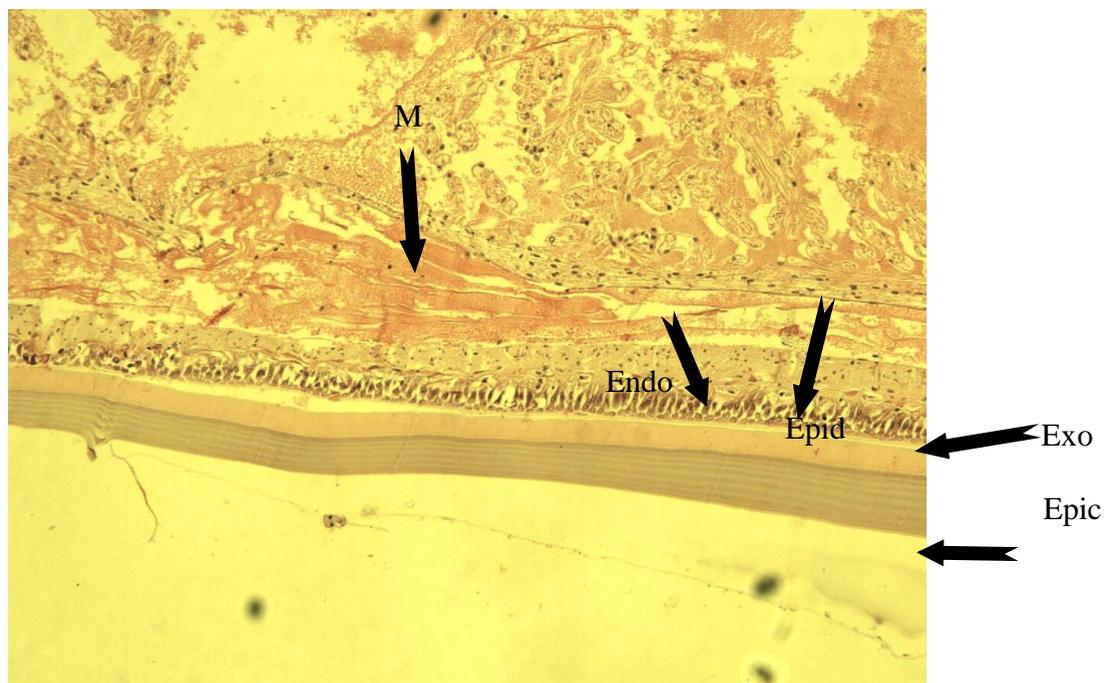


Figura 20. Corte histológico del exoesqueleto sano del camarón blanco *Penaeus vannamei* (H y E, 25x). Endo=endocutícula, Epic=epicutícula, Epid epidermis, Exo=exoesqueleto y M=músculo

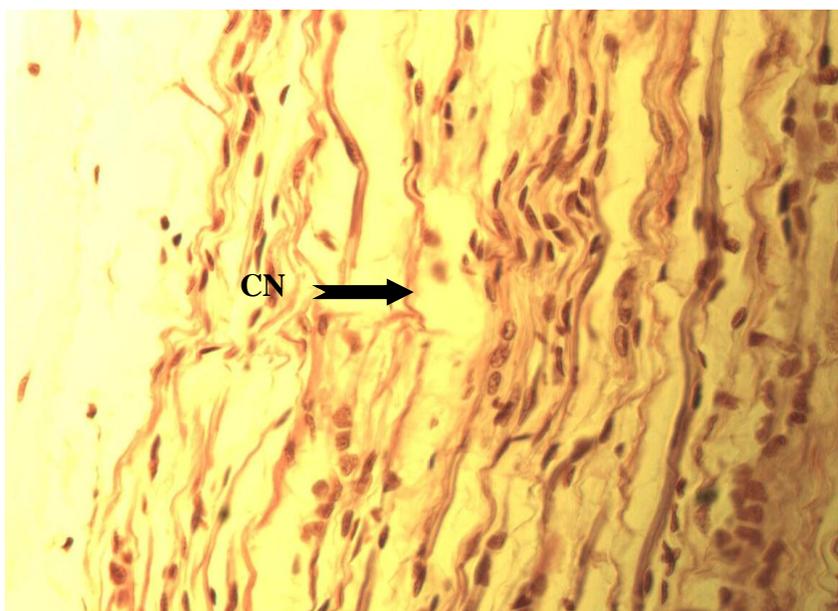


Figura 21. Corte histológico del cordón nervioso (CN) sano en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado (H y E, 40x)

5.6 Discusión

Los resultados del presente capítulo demuestran que los camarones de las especies *P. duorarum*, *P. brasiliensis*, *P. aztecus*, *P. setiferus*, *X. kroyeri* y *S. brevisrostris* y *P. vannamei* no estuvieron infectados por el WSSV, YHV y TSV. En cambio, se detectó la presencia de PstDV1 en el camarón blanco *P. vannamei* cultivado en el mes de diciembre de 2001, y los meses de marzo, abril, junio, julio, agosto, septiembre y octubre de 2002. En el muestreo realizado en 2013 se detectó PstDV1 en dos granjas del estado de Veracruz y cuatro del estado de Tabasco. Con respecto a los camarones silvestres, se detectó PstDV1 en *P. aztecus* y *X. kroyeri* en el puerto de Dos Bocas, Paraíso, Tabasco, y en *P. aztecus* y *P. duorarum* en el puerto de Barra de Dos Bocas y en Barra Chiltepec, Paraíso, Tabasco.

Claramente, los tamaños de muestra del presente trabajo son superiores tanto para organismos silvestres como cultivados, respecto de cualquier otro estudio previo llevado a cabo en la costa sur del Golfo de México. Aunque se hicieron pools de cinco organismos esto no influyó en la detección de los virus en cuestión, dada la alta sensibilidad de la prueba de PCR (que detecta a partir de 40 ng). De conformidad con los resultados obtenidos, las

poblaciones silvestres de camarón rosado, rojo, café, blanco, de roca y siete barbas; así como los camarones blancos del pacífico cultivados, no se detectaron la presencia de TSV, YHV y WSSV. Sin embargo, existen resultados publicados por Guzmán-Sáenz *et al.* (2009), que identificaron la presencia de TSV en camarones silvestres *P. aztecus* (4/59) y *P. setiferus* (4/121) en la Laguna Madre, Tamaulipas. Estado no contemplado en esta tesis.

El presente trabajo se enfocó en el sur del Golfo de México desde Boca del Río, Veracruz hasta Yalahau, Quintana Roo, con las especies de *P. duorarum*, *P. brasiliensis*, *P. aztecus*, *P. setiferus*, *X. kroyeri* y *S. brevivirostris* y el cultivado *P. vannamei* en Veracruz, Tabasco, Campeche y Yucatán. En ningún caso se observaron cuerpos de inclusión mediante histología y la prueba de PCR resultó negativa en los camarones silvestres y los virus WSSV, TSV y YHV en los camarones cultivados. Esto concuerda con los resultados de Chávez-Sánchez *et al.* (2002), quienes realizaron un estudio en el Golfo de México desde Tamaulipas hasta Campeche con camarones silvestres de las especies *P. aztecus*, *P. duorarum*, *P. setiferus* y el camarón blanco *P. vannamei* cultivado en Tamaulipas. Histológicamente estos autores no observaron inclusiones virales en 688 organismos. Sin embargo, en dos camarones, ambos del estado de Campeche (uno de Isla Arena y otro en Champotón respectivamente), observaron la posible presencia de cuerpos de inclusión de WSSV. No obstante las pruebas de hibridización *in situ* y PCR fueron negativas. Con estos resultados se puede afirmar que hasta el momento no se detecta la presencia de los virus TSV, WSSV y YHV en los estados de Yucatán y en la Laguna de Yalahau, Quintana Roo.

En los pocos estudios que se han realizado en el Golfo de México incluyendo los de esta tesis, los virus Asiáticos YHV y WSSV no han sido detectados. Con respecto al virus de la Cabeza Amarilla (YHV) es considerado muy virulento por las altas mortalidades que ha ocasionado. Nunan *et al.* (1998), mencionan que en 1995 los Estados Unidos importó 118,888 toneladas de camarón congelado de seis países asiáticos, en los cuales están presentes los virus YHV y WSSV siendo este el mecanismo de introducción de estos virus.

En este trabajo se descarta la posibilidad de la existencia del virus TSV en los tiempos de muestreo. Aunque no se detectó y los tamaños de muestras fueron representativos existen

autores que confirman TSV en el Golfo de México. Guzmán-Sáenz *et al.* (2009) reportan la presencia de TSV en camarones silvestres *P. aztecus* (4/59) y *P. setiferus* (4/121) en la Laguna Madre, Tamaulipas, mientras que Erickson *et al.* (2002), mencionan que hubo TSV en Yucatán. Sin embargo, en ningún momento se aclara en el texto si el virus fue detectado en poblaciones silvestres o cultivadas o cual fue el tamaño de la muestra. Una posible causa para la no detección puede ser que los lotes introducidos a las granjas muestreadas estuviesen libres de TSV. Estos hechos y los resultados negativos obtenidos en el presente estudio.

Es probable que existan diferentes cepas de TSV ya que por ser ARN virus son más inestables. Esto a su vez, puede afectar la virulencia de la enfermedad. Al respecto, Overstreet *et al.* (1997) reportaron que los camarones cultivados son más susceptibles a factores ambientales tales como temperatura y salinidad dando lugar a posibles variedades de TSV. Erickson *et al.* (2002), encontraron que el virus de TSV puede tener cambios (un 98% homólogo) en la estructura proteínica entre los virus detectados en camarones de Hawái y en México (Sonora y Sinaloa). Zarain-Herzberg *et al.* (2003) al igual menciona que existe una alta probabilidad en la mutación de este virus. Aparentemente su estructura difiere de acuerdo a las condiciones ambientales ocasionando una variedad de manifestaciones clínicas. Sin embargo, es necesario realizar más estudios sobre su caracterización molecular a fin de ser conclusivos acerca de la presencia o ausencia de este virus en el sur del Golfo de México.

En este capítulo se detectó el virus PstDV1 en camarones silvestres *P. duorarum*, *P. aztecus* y *X. kroyeri* y cultivados *P. vannamei*. Por la baja virulencia comparado con YHV, WSSV y TSV, el virus PstDV1 es poco estudiado y prácticamente aceptado entre los acuacultores. Sin embargo, Lightner *et al.* (1983) mencionan que las pérdidas causadas por este virus son de aproximadamente del 50%. Aunque no ocasiona la muerte a los camarones *P. vannamei* pero si el síndrome de la deformidad, esto provoca pérdidas económicas a los acuicultores. Además, es necesario tener una vigilancia permanente para evitar la dispersión de este virus a través de la venta de larvas o postlarvas. Desafortunadamente, como mencionan Sánchez-Paz *et al.* (2010), no se le da importancia a la presencia de PstDV1 por las nulas mortalidades en el camarón blanco.

En este trabajo en el muestreo anual de la granja de Yucatán durante diciembre de 2001 a noviembre de 2002 se detectó PstDV1 en los meses de marzo, abril, junio, julio, agosto, septiembre y octubre. Posiblemente en el resto de los meses no salieron positivos debido a que como se hicieron pools de los cinco camarones se haya tomado partes no infectadas. Claramente, como la prevalencia depende del nivel de detección de la prueba (sensibilidad del diagnóstico), entre más camarones se incluyan en los pools, mayor probabilidad habrá de diluir el virus y menor posibilidad de detectarlo. Al respecto, Motte *et al.*, (2003), realizaron un estudio para conocer la prevalencia de PstDV1 en Ecuador y Panamá siendo esta de 47 y 63 % respectivamente. Mencionan que en la provincia de Manabi en Puerto Cayo la prevalencia fue del 20%, y lo atribuyen a la carencia de granjas en esta área. De acuerdo con Macías-Rodríguez *et al.* (2014) mencionan que puede mantenerse los virus PstDV1 y WSSV viables en vertebrados e invertebrados que se encuentran en los alrededores de las granjas donde se cultiva camarones a lo largo de la costa del pacifico de México y que existe evidencia que puede estar presente en jaibas azules, camarón blanco y café.

En este trabajo no se observaron inclusiones virales en los camarones estudiados. Una posible explicación a este hecho radica en los bajos niveles de infección de este virus en los camarones, lo que puede hacer no detectable por la técnica presuntiva. Bell y Lightner (1984), realizaron infecciones experimentales con virus de PstDV1 a diferentes tallas de camarones para evaluar la expresión de la enfermedad y encontrar cuerpos de inclusión por métodos histológicos. Estos autores encontraron tres fases de respuesta del virus. La primera que se requiere de un periodo de incubación en el cual son niveles extremadamente bajos o latentes que no producen signos clínicos (aproximadamente 40 mg de peso). La segunda fase se presenta con un crecimiento exponencial (entre los 60 y 120 mg de peso). En la tercera fase donde se pueden observan inclusiones virales, es cuando se asintótiza el crecimiento viral y en promedio ocurre a los camarones de 20 g. Los camarones que sufrieron daño severo fueron aquellos de 0.1 a 3.7 g a partir de la segunda semana de haber sido infectados.

Esto coincide con lo sugerido por Lotz (1997), quien mencionó que la dispersión del virus está influida directamente por las rutas de transmisión o prácticas de cultivo. La transmisión, puede ser horizontal (ingestión de organismos infectados) o vertical (huevos). Motte *et al.*

(2003) mencionan que la transmisión vertical es un factor crucial en el incremento de las prevalencias de PstDV1 en camarones cultivados, ya que una hembra infectada contiene entre 2.5 a 25 millones de moléculas ADN virus/ml de hemolinfa. Al desovar se estima que en nauplio II contiene entre 100 y 10,000 moléculas del virus, incrementándose 100 veces más en nauplio V. Además, esta hembra infectada no solo produce nauplios de mala calidad si no que cuantitativamente produce 25% menos.

Lightner (1996), realizó infecciones experimentales con el virus de PstDV1, a especies *P. aztecus*, *P. duorarum* y *P. setiferus*, y encontró que este virus no provoca efectos nocivos a estas especies. Aunque no existen trabajos sobre infecciones experimentales de este virus en el camarón rojo *P. brasiliensis* y dadas sus semejanzas ecológicas y fisiológicas con los camarones café y rosado, se esperaría el mismo resultado.

Lo más importante es determinar la distribución de la infección en la granja, y para ello una alternativa para abatir costos sería el desarrollar tecnología local con igual sensibilidad y especificidad que los kits de diagnóstico comerciales, y poner especial énfasis en el diagnóstico de hembras maduras para disminuir la transmisión a las crías. Diferentes autores han hecho propuestas para la prevención y monitoreo de este virus como Carr *et al.* (1996). Este autor ha propuesto desarrollar un programa con camarones libres de infección (SPF) en el que se requieren monitoreos rutinarios y muestreos periódicos. Sin embargo, esto implica un elevado costo de mantenimiento debido al uso de diagnósticos serológicos o técnicas de biología molecular como la PCR. Sin embargo, a pesar de ser esta prueba rápida y de relativo fácil proceso, el problema es su costo. Poulos *et al.* (1994) ha propuesto la estandarización de los métodos de ELISA e Inmunoblot. Sin embargo, estos sólo son capaces de detectar el virus en muestras frescas y no en congeladas.

Una alternativa más es investigar infecciones conjuntas. Al respecto, Tang *et al.* (2003), encontraron que los camarones azules *P. stylirostris* infectados previamente con PstDV1, desarrolla una resistencia a WSSV, ocasionando una supervivencia de 28 a 90%. Esta variación puede estar relacionada con los diferentes niveles de infección de PstDV1 y las variaciones en los factores fisicoquímicos.

Aunque hasta el momento no existe la evidencia de la presencia de TSV, YHV y WSSV en la región, existe el riesgo potencial de que estas enfermedades puedan aparecer en esta zona del Golfo de México, por el número de lotes de postlarvas para engorda que se introducen año con año a las granjas que se encuentran en los cinco estados involucrados.

Por lo antes expuesto en el Sur del Golfo de México se sugiere realizar un estudio de análisis de riesgo. Este proceso consta de cuatro etapas: a) identificación del peligro, el cual consta de la elaboración de un listado de los agentes (virus en este caso), que están asociados al organismo en cuestión y determinar si el agente existe o no en el país o zona de origen b) evaluación del riesgo, es decir cuál es la probabilidad de ingreso del agente, la exposición del patógeno en el lugar de destino, las consecuencias que ocasionaría el patógeno y finalmente la estimación del riesgo; c) manejo del riesgo, el cual consiste en comparar el resultado obtenido en el análisis de riesgo con el nivel adecuado de protección establecido en el país mediante los acuerdos tomados en la Organización Internacional de Epizootias, y finalmente d) la comunicación del riesgo, la cual debe ser multidireccional hacia todos los sectores involucrados (OIE, 2013; 2018).

CAPÍTULO 6 Discusión General

El objetivo principal de esta tesis fue determinar la dinámica espacio-temporal de los parásitos de los camarones silvestres y cultivados, así como los daños histológicos producidos por estos a sus hospederos.

Los resultados de este trabajo demostraron que la intensidad promedio de los helmintos y la abundancia estimada de los protozoarios en los camarones cultivados y silvestres, presentan diferencias entre épocas del año y localidades. Asimismo, se demostró que la temperatura produjo diferencias significativas en la Abundancia estimada de los protozoarios ectocomensales presentes en los camarones cultivados.

De igual manera se detectó en camarones cultivados en Veracruz, Tabasco y Yucatán, la presencia del virus PstDV1. En muestras obtenidas en una granja de Yucatán, este virus, se identificó en siete de los 12 meses muestreados. Asimismo a los camarones silvestres *P. aztecus* y *X. kroyeri*, resultaron positivos a este virus en el puerto de Dos Bocas y Paraíso en la costa de Tabasco. Otras especies en las que se detectó el virus en cuestión fueron *P. aztecus* y *P. duorarum* en el puerto de Barra de dos bocas y en Barra Chiltepec, Paraíso, Tabasco. Cabe aclarar que durante el análisis de las muestras, no se detectaron daños histológicos aparentes.

En lo que se refiere a los helmintos podemos afirmar que los cestodos son el principal grupo que parasitan el hepatopáncreas a los camarones silvestres. De acuerdo con Hochberg (1990) los cestodos de esta familia se encuentran en etapas larvales en el hepatopáncreas y actúan como hospederos intermediarios.

Cuando se encuentran muchos cestodos en un solo camarón, tal vez podrían llegar a afectar la tasa de supervivencia o crecimiento de las poblaciones silvestres infestadas ya que se encuentran en la glándula digestiva y no permita una asimilación correcta de los nutrientes. (Morales y Cuellar-Anjel 2014).

Otro grupo de hospederos intermediarios de los camarones detectado fueron los trematodos de los géneros *Opecoeloides* y *Helicometrina*, los cuales se encuentran en forma de metarcarias enquistados principalmente bajo el exoesqueleto, sin presentar signos clínicos (Morales y Cuellar-Anjel 2014).

Los ectocomensales utilizan a los camarones como sustrato para adherirse, Lightner, (1996), pero si la colonización es excesiva cuando se adhieren a las branquias o en los apéndices locomotoras principalmente en fase larvaria pueden competir por el oxígeno disuelto y pueden ocasionar una alta mortalidad (Morales y Cuellar-Anjel, 2014). Esta hipótesis no se ha comprobado y se requeriría desarrollar los protocolos para comprobarlas y determinar si la abundancia de estos organismos afecta el crecimiento, asimilación de nutrientes o la supervivencia de los camarones, hasta el momento, la presencia de estos organismos en los camarones silvestres, no reveló daño histológico aparente.

En lo que respecta al capítulo 4, se determinó que *P. vannamei* fue colonizado por tres especies de protozoarios ectocomensales, dos de la subclase Peritricha (*Epistylis* sp. y *Zoothamnium penaei*) y una de la clase suctoria (*Acineta tuberosa*). Durante la época de lluvias *Z. penaei* fue significativamente diferente, presentó una mayor prevalencia y abundancia estimada en épocas de lluvias, sin embargo en las épocas de nortes y secas, no hubo diferencias significativas. Asimismo se determinó una correlación positiva con la variable temperatura.

En todos los cultivos y sistemas de producción son determinantes las buenas prácticas. La baja calidad del agua y las altas densidades de siembra en los estanques favorecen mayores infestaciones de ectocomensales, los sistemas de cultivo donde se colectaron las muestras algunas no presentaban buenas prácticas, lo que de acuerdo con Morales y Cuellar-Anjel, (2014), pueden ocasionar la mortalidad después de una manipulación (muestreo o transferencia).

Los virus son los agentes infecciosos más importantes a escala mundial, debido a los daños sistémicos en los organismos infectados y económicos en las unidades de producción. Es por eso que resultados más relevantes de esta tesis están el capítulo 5, ya que se la presencia de PstDV1 en el camarón blanco *P. vannamei* cultivado en los meses abril, mayo, junio, julio, agosto, septiembre y octubre de 2002. Y en granjas de los estados de Veracruz, Tabasco y Yucatán en un muestreo durante 2013. Estos resultados se obtuvieron con un tamaño de muestra con 95% de confiabilidad. Con respecto a los camarones silvestres se registró PstDV1 en *P. aztecus* y *X. kroyeri* en el puerto de Dos Bocas, Paraíso, Tabasco, en *P. aztecus* y *P. duorarum* en el puerto de Barra de dos bocas y en Barra Chiltepec, Paraíso, Tabasco.

En los organismos de las especies *P. brasiliensis*, *P. duorarum* y *P. vannamei*, que fueron recolectados como muestra no se identificó ninguno de los virus analizados.

De acuerdo con Peeler (2012), el crecimiento de la camaronicultura ha disminuido debido a emergencias causadas por numerosas enfermedades graves, las cuales se han diseminado rápidamente a través del mundo. Flegel (2012), menciona que aproximadamente el 60% de las enfermedades de los camarones son de origen viral, para *P. vannamei*. Por otro lado las unidades de producción acuícola mantienen un intercambio permanente con el medio para mantener la calidad del agua, Buchman (2011) menciona que los organismos que escapan pueden ser un reservorio de enfermedades que afectan a las poblaciones silvestres. Un ejemplo de esto es el virus de la mancha blanca (WSSV) se ha demostrado que permanece viable en organismos silvestres que se encuentran en los ambientes contiguos a las granjas donde se cultiva camarones a lo largo de la costa del Pacífico mexicano, en jaibas azules y camarón blanco se encontró con una prevalencia de 3.6% (Macías-Rodríguez *et al.*, 2014). Wakida-Kusunoki *et al.* (2011) mencionan que en la Laguna Carmen, Pajonal y Machona en el estado de Tabasco entre las especies exóticas encontradas reportan al camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*, especie introducida a las granjas de camarón para su cultivo.

Se sabe que la introducción de organismos vivos no certificadas genera un alto riesgo para la diseminación de las enfermedades, Motte *et al.* (2003) mencionan que la transmisión vertical es un factor crucial en el incremento de las prevalencias de PstDV1 en camarones cultivados,

ya que una hembra infectada contiene entre 2.5 a 25 millones de moléculas ADN virus/ml de hemolinfa. Al desovar esta se estima que en nauplio II contiene entre 100 y 10,000 moléculas del virus incrementándose 100 veces más en nauplio V. Además, esta hembra infectada no solo produce nauplios de mala calidad si no que cuantitativamente produce 25% menos nauplios.

Los principales vectores para la diseminación de los patógenos referidos, en el medio natural, son los hospederos introducidos al medio natural durante el proceso de recambio de agua en los estanques de cultivo, así como las especies susceptibles los patógenos que se encuentran en las inmediaciones de las unidades acuícolas donde se producen las descargas de los efluentes. Morales-Covarrubias *et al.* (1999); reportaron la presencia de PstDV1, en camarones adultos silvestres del *P. vannamei* y *P. stylirostris* en el norte del Golfo de California frente al estado de Sonora, México con una prevalencias entre el 56 y 86%.

El estudio de las enfermedades en los organismos silvestres ayudaría a comprender con mayor facilidad la presencia de los patógenos en los organismos cultivados, ya que se ha documentado que las poblaciones silvestres pueden tolerar prevalencias más altas según Messick (1994) menciona que prevalencias del 100% en los cangrejos azules no causan declive en la población silvestre. Pero si el equilibrio del entorno ecológico, ambiental se rompe alteran potencialmente la prevalencia e infección de patógenos en los crustáceos silvestres (Stentiford *et al.* 2012).

Stentiford *et al.* (2001), afirmaron que la presión pesquera altera la estructura de los stocks los cuales ya han llegado a su captura máxima sostenible y no hay forma o cabida para aumentar las pérdidas por enfermedades, pero se desconoce el verdadero impacto de estas, debido a esto se requiere de una colaboración más estrecha entre los biólogos pesqueros y epidemiólogos para realizar programas de muestreo, para tener una mejor comprensión del papel de la actividad pesquera sobre la estructura de las poblaciones y la influencia de las enfermedades y si estas han aumentado la mortalidad natural y esta generará una caída mayor de pesca.

Es por eso que es importante seguir monitoreando las poblaciones silvestres del Golfo de México, para poder llegar a establecer una relación entre el status sanitario de las poblaciones silvestres de camarón y su baja producción pesquera de altura. Que no obstante las temporadas de veda implementadas mantiene la misma tendencia a mantenerse baja. Es importante enfocar trabajos para definir si las enfermedades virales que han dañado la producción acuícola y que se encuentran presentes en las poblaciones silvestres son un factor que pudiera ser determinante en la falta de recuperación de los niveles de producción pesquera.

CAPÍTULO 7 Conclusiones

Basados en las evidencias obtenidas hacemos las siguientes conclusiones con respecto a *P. brasiliensis*:

- Los helmintos que parasitan a *P. brasiliensis* fueron: el céstodo *Prochristianella hispida* y los trematodos *Opecoeloides fimbriatus* y *Helicometrina nimia*
- Se demostró que existen variaciones espaciotemporales con respecto a los parámetros epidemiológicos prevalencia, y grado de infestación de cestodos y trematodos en los camarones *P. brasiliensis*.
- La prevalencia de cestodo *Prochristianella hispida* en Chabihau fue significativamente diferente, con respecto a las otras tres localidades estudiadas.
- El grado de infestación de *P hispida*, en las localidades estudiadas fue igual en lluvias y nortes, pero fue significativamente diferente en época de secas. Y fue significativamente diferente entre las cuatro localidades estudiadas
- El trematodo *Opecoeloides fimbriatus*. solamente se encontró en los camarones colectados en Ria lagartos y Yalahau y su prevalencia fue igual en ambas localidades, en las tres épocas del año referidas en este estudio.
- Los protozoarios ectocomensales encontrados en *P. brasiliensis* fueron: *Zoothamnium penaei*, *Epistylis* sp., *Acineta tuberosa* y una gregarina no identificada (Gregarinidae gen. sp.).
- Existe variación espaciotemporal de los parámetros epidemiológicos (prevalencia, y abundancia relativa) con respecto a los epicomensales encontrados en *P. brasiliensis*.
- Existen diferencias significativas en abundancia relativa de *Z. penaei* y *Epistylis* sp, entre los camarones *P. brasiliensis*, capturados en Ría Lagartos y Yalahau.

- La prevalencia de *Z penaei*, fue significativamente diferente en las tres localidades en las tres épocas del año consideradas.
- La mayor prevalencia de *Epistylis* sp. presentó en época de nortes en las tres localidades que consideró este estudio.
- *Acineta tuberosa*, se registró en las tres épocas del año en las tres localidades sin presentar diferencias espaciotemporales en cuanto a su prevalencia.
- Se identificó la presencia de una gregarina (Gregarinidae, *Gen sp.*), en Ria lagartos y Yalahau, asimismo su abundancia relativa fue significativamente mayor en época de lluvias.
- La prevalencia de *Apostoma* sp, fue significativamente mayor en Ria lagartos en época de lluvias en Ria lagartos.
- La abundancia relativa de *Apostoma* sp, no presentó diferencias significativas espaciotemporales.

De conformidad con los resultados obtenidos hacemos las siguientes conclusiones con respecto a *Penaeus duorarum*:

- La prevalencia de *P hispida* no presento diferencias significativas espaciotemporales.
- En la localidad de Sisal la prevalencia de *P hispida* fue cero.
- La infestación promedio de *P hispida* fue significativamente diferente entre las tres épocas.
- Los ectocomensales encontrados en *P duorarum* fueron: *Z penaei* y *Epistylis* sp.
- La prevalencia de *Z penaei* fue significativamente diferente en Celestún Sisal en las tres épocas consideradas en este estudio.

- La abundancia relativa de *Z penaei* fue significativamente diferente entre Celestún y Sisal.
- *Epistylis sp*, solo se identificó su presencia en época de nortes y secas en Celestún. Presento diferencias significativas espaciotemporales en cuanto a las variables epidemiológicas de abundancia relativa y prevalencia en *P duorarum*.

De conformidad con los resultados obtenidos hacemos las siguientes conclusiones con respecto a *Penaeus vannamei*

- En los camarones *P. vannamei* cultivados, se encontró durante un ciclo anual de cultivo tres especies de protozoarios, *Epistylis sp.*, *Zoothamnium penaei* y *Acineta tuberosa*.
- existe una correlación entre la abundancia estimada de los ectocomensales y la temperatura del agua
- En los camarones cultivados en algunas granjas de Veracruz, Tabasco y Yucatán se detectó la presencia del virus PstDV1. Tienes que identificar las granjas
- Se identificó la presencia del virus PstDV1 en los camarones silvestres *P. aztecus* y *X. kroyeri* en el puerto de Dos Bocas, Paraíso Tabasco, en *P. aztecus* y *P. duorarum* en el puerto de Barra de dos bocas así como en Barra Chiltepec y Paraíso Tabasco.
- En ninguna de las muestras analizadas se observaron daños histológicos causados las parasitosis analizadas en los camarones motivo de este estudio. .

CAPÍTULO 8 Perspectivas

La especie de camarón, más cultivada a escala global es el camarón blanco del Pacífico *P. vannamei* (Lightner *et al.*, 2012), y durante el proceso de desarrollo y crecimiento de su cultivo en los años 80tas y 90tas, fueron movilizados prácticamente de manera irrestricta, lo que contribuyó a la difusión de agentes patógenos altamente virulentos como fue el caso de mancha blanca y cabeza amarilla en Asia y PstDV1 y Taura en América (Lightner, 1996).

No obstante que ya existen regulaciones internacionales y nacionales para la movilización de organismos, persisten los riesgos en la introducción de organismos exóticos. En los estados que colindan con el Golfo de México se ha promovido el cultivo del camarón blanco del Pacífico *P. vannamei*, aumentando el número de granjas y por ende el número de hectáreas a cultivadas. Pero se desconoce si esto ha generado un impacto sanitario en las poblaciones de crustáceos silvestres que habitan cerca de las desembocaduras de las granjas y tampoco se conoce a los patógenos que infectan a los camarones en la región.

Es conveniente mencionar que el INAPESCA comenzó la compilación de información del estado sanitario de estas poblaciones silvestres y cultivadas para aportar datos concretos que coadyuven en la toma de decisiones en materia de bioseguridad acuícola. Sin embargo, aún no se han desarrollado protocolos que permitan evaluar la susceptibilidad de los organismos silvestres a los virus PstDV1, WSSV, TSV, YHV e IMNV, que se han presentado en camarones cultivados a nivel mundial.

Es conveniente presentar a los tomadores de decisiones de manera clara las aportaciones científicas que permitan generar, revisar y actualizar la normatividad local en materia de bioseguridad, así como evaluar los resultados de la implementación del plan estratégico 2016-2020 de la OIE, en lo referente a movilización de organismos

Un campo en el ámbito científico que se tiende a desarrollar a escala global son los sistemas multitróficos integrados, ya que son amables con el ambiente y bioseguros.

CAPÍTULO 9 Literatura citada

- Aguirre-Macedo M y Kennedy C (1999).** Diversity of metazoan parasites of the introduced oyster species *Crassostrea gigas* in the Exe Estuary. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 79:57-63.
- Aladro-Lubel M, Martínez-Murillo M y Mayén-Estrada R (1994).** Manual de ciliados psamofilos marinos y salobres de México. *Cuadernos IBUNAM* 9. UNAM, México: 174.
- Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca (2017).**
<https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>
consultado 15 de enero 2019.
- Argáez-García N (2003).** Comunidades de helmintos parásitos intestinales del pargo mulato *Lutjanus griseus* Linneo, 1958 (Pises: Lutjanidae) en un ambiente marino y una estuario del estado de Yucatán, México. *Tesis de licenciatura* de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Yucatán, 136.
- Arun K, Roux M y Klimpel K (2001).** Detection and Quantification of Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus and White Spot Virus in Shrimp Using Real-Time quantitative PCR and SYBR Green Chemistry. *Journal of Clinical Microbiology* 30:2835-2845.
- Aufderheide K (1982).** An improvement in the Protargol Technique of Ng and Nelsen. *Transactions of the American Microscopical Society* 101:100-104.
- Barrera M (2006).** Sanitary records of *Samastacus spinifrons* in Chile and other parastacids in the world. Electronic Monographs of Veterinary pathology. Disponible: <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET12006/PDF/mepavet16.pdf>
- Bayot B, Ochoa X, Cisneros I, Vera T, Van L, Calderón J y Cornejo M (2002).** Sistema de alerta para la acuicultura del camarón.
www.cenaim.espol.edu.ec/publicaciones/Boletin81/3pdf. Consultado 18 de Julio de 2013.

- Bell T y Lightner D (1984).** IHNV virus: Infectivity and pathogenicity studies in *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 38:185-194.
- Bondad M; McGladdery S; East I. y Subasinghe R. (2001).** Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. FAO Fisheries Technical Paper, 237.
- Bray W, Lawrence A, More W, Pérez-Velázquez M y González-Félix M (2004).** Un estudio de caso en el manejo del virus de la Mancha Blanca en una granja de Centroamérica. Avances en Nutrición Acuícola VII. VII Simposio Internacional de Nutrición Acuícola 16 al 19 Nov. 2004, Hermosillo, Sonora.
http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VII/archivos/19WilliamBray.pdf.
Consultado 2 febrero 2018.
- Briggs M, Funge-Smith S, Subasinghe R y Phillips M (2005).** *Introducciones y movimiento de dos especies de camarones Penaeidos en Asia y el Pacífico*. FAO Documento Técnico de Pesca No 476. Roma, 86
- Brock J y Kevan L (1994).** A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei*. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana, USA, 242.
- Brown P, White M, Swann D y Fuller M (1993).** A severe outbreak of ectoparasitism due to *Epistylis* sp. in pond-reared Orconectid crayfish. *Journal of the World Aquaculture Society* 24:116-120.
- Buchmann K (2011).** Fish parasites: Pathobiology and protection. CAB International, Oxfordshire, UK, 55.72.
- Bush A, Laffety K, Lotz J y Shostak A (1997).** Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis. *Revised Journal of Parasitology* 83:575-583.

- Carr W, Sweeney J, Nunan L, Lightner D, Hirsch H y Reddington J (1996).** The use of an Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus gene probe serodiagnostic field kit for the screening of candidate specific pathogen-free *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 147:1-8.
- COSAES (2012 y 2014).** Informe Final de Sanidad Acuícola camarón 2012 y 2014. www.cosaes.com.mx/infcamaron2014.htm. Consultado 20 enero 2018.
- Cotmore S, Agbandje-McKenna M., Canuti M, Chiorini J, Eis-Hubinger A, Hughes J, Mietzsch M, Modha S, Ogliastro M, Péntzes J, Pintel D, Qiu J, Soderlund-Venermo M, Tattersall P y Tijssen P (2019).** Perfil de taxonomía de virus ICTV: Parvoviridae, *Journal of General Virology*, 100: 367–368.
- Couch J (1966).** Two peritrichous ciliates from the gills of the blue crab. *Chesapeake Sci* 7:171-176.
- Couch J (1974).** Detection of interactions between natural pathogens and pollutants in Aquatic Animals. *Gulf Coast Regional Symposium on Diseases of Aquatic Animals*. LSU-SG-74-05. Baton Rouge, La. 70803: 261-268.
- Couch J (1976).** Attempts to increase Baculovirus prevalence in shrimp by chemical exposure. *Progress in Experimental Tumor Research* 20:304-314.
- Couch J (1978).** Diseases, parasites and toxic responses of commercial penaeid shrimp of the Gulf of Mexico and South Atlantic coast of North America. *Fishery Bulletin* 76:1-59.
- Couch J (1983).** Diseases caused by protozoa. In: A.J. Provenzano (Ed). *The Biology of Crustacean*. Academic Press, New York, NY 6:79-111.
- Cowley J, Walker P, Flegel T, Lightner D, Bonami J, Snijder E y De Groot R (2012).** Family Roniviridae. In: Virus Taxonomy, IXth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, King A., Adams M., Carstens E. & Lefkowitz E.J., eds. Elsevier, Academic Press,

London, UK, 797-801.

Cuellar-Anjel J (2013). Necrosis Infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHN). www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/infectious-hypodermal-and-hematopoietic-necrosis-es.-pdf. Consultado 15 enero 2018.

Cuellar-Anjel J (2013a). Síndrome de Taura. www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/taura-syndrome-es.pdf. Consultado 15 enero 2018.

Cuellar-Anjel J (2013b). Enfermedad de las manchas blancas. www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/white-spote-disease-pdf. Consultado 15 enero 2018.

Cuellar-Anjel J (2013c). Enfermedad de la cabeza amarilla. http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/infection_with_yellowhead_virus-es.pdf. Consultado 15 de enero 2018.

Chávez-Sánchez M, Hernández M, Abad S, Fajer E, Montoya L y Álvarez P (2002). A survey of infectious diseases and parasites of penaeid shrimp from the Gulf of México. *Journal of the World Aquaculture Society* 33:316-329.

Chávez-Sánchez M e Higuera-Ciapara I (2003). Manual de Buenas Prácticas de Producción Acuícola de Camarón para la Inocuidad Alimentaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, pesca y Alimentación y Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y calidad alimentaria, 95.

Chen Y, Nakashima P, Christian N, Bakonyi D, Bonning T, Valles y Lightner D (2012). In: King, A.M.Q; Adams, M. J; Carstens, E.B; Lefkowitz, E. J. (Eds.), *Virus Taxonomy, 9th Report of the ICTV*, 840-845.

Chu-Fang L y Guang-Hsiung K (1998). Virus-associated white spot syndrome of shrimp in Taiwan: A review. 33: 365-371

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsfp1966/33/4/33_4_365/_article. Consultado 15 enero 2018.

De la Rosa-Vélez J y Bonami J (2002). Herramientas Moleculares: una estrategia para la prevención de epizootias virales en cultivos de camarón. Avances y tendencias en camaronicultura *AGT editores*, México, D.F. (en Prensa).

Del Rio-Rodríguez, R, Soto-Rodríguez S, Lara-Flores M, Cu-Escamilla A y Gómez-Solano M (2006). A Necrozing Hepatopancreatitis (NHP) outbreak in a shrimp farm in Campeche Mexico: A first case report. *Aquaculture* 255:606-609.

Del Rio-Rodríguez R, Sosa-López A y Pech D (2010). Ex-post facto analysis of diseases of the Gulf of Mexico's White shrimp (*P. setiferus*). *Aquaculture Research* 2012:1-6

Del Rio-Rodríguez R, Pech D, Soto-Rodríguez S, Gómez-Solano M y Sosa-López A (2013). A ten month diseases on wild White shrimp *Litopenaeus setiferus* (Decapoda: penaeidae) from southern Gulf of Mexico. *Revista de Biología Tropical* 61:1175-1188.

Deroux G, Campillo A y Bradbury P (1976). *Ascophrys rodor* parasite de la crevette rose *P. serratus* en élevage. *Revue des Travaux des l'Institute des Peches Maritimes* 39:359-379.

Des Clers S (1994). Sampling to Detect Infections and Estimate Prevalence in Aquaculture. Ed Pisces Press, London, England, 85.

Dirección General de Acuicultura (1997). Programa Nacional de Expresión Estatal. Secretaría de Pesca, 57.

Drury R y Walligton E (1980). Carleton's Histological Technique. Oxford University Press. London. Fifth edition, 520.

- Edgerton B, Evans L, Stephens F y Overstreet R (2002).** Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. *Aquaculture* 206:57-135.
- Erickson H, Zarain M y Lightner D (2002).** Detection of Taura Syndrome Virus (TSV) Strain Differences Using Selected Diagnostic Methods: diagnostic implications in Penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms* 52:1-10.
- FAO (2020).** El estado Mundial de la Pesca y Acuicultura. <http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture/es/> Consultado julio 2020.
- Fauquet C, Mayo M, Maniloff J y Desselberger U (2005).** Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Elsevier Academic Press, 1259.
- Fernández-Leboranz G, Herrera M y Gómez P (1997).** Distribution of ciliate epibionts of the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). *Transaction of the American Microscopical Society* 96:172-177.
- Fisher W (1977).** Epibiotic microbial infestations of cultured crustaceans Proceedings of the Annual Meeting of *the World Mariculture Society* 8:673-217.
- Fitzgerarld M, Simco B y Conos L (1982).** Ultrastructure of the peritrich ciliate *Ambiphyra ameiuri* and its attachment to the gills of the catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of protozoology* 29: 213-217.
- Flegel T (2006).** Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand. *Aquaculture* 258:1-33.
- Flegel T (2012).** Historic emergence, impact and status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology* 110:166-173.
- Flegel T y Sritunyalucksana K (2011).** Shrimp molecular reponses to viral pathogens. *Marine Biothenochlogy* 13:587-607.

- Foissner W (1991).** Basic Light and Scanning Electron Microscopic Methods for Taxonomic Studies of Ciliated protozoa. *Journal of Parasitology* 27:313-330.
- Fontaine C (1985).** A survey of potential disease-causing organisms in bait shrimp from west Galveston Bay, Texas. *NOAA Technical Memorandum NMFS SEFC-169*:1-56.
- Galaviz-Silva 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 Doctor en Ciencias. Facultad de Biología, Universidad de Nuevo León: 134.
- Galaviz-Silva L y Molina-Garza Z (2014).** Patógenos y parásitos. <http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/Invasoras/pdf/acuaticas-invasoras-cap15.pdf>. Consultado 15 de enero 2018
- Galván-Álvarez D, Mendoza-Cano F, Hernández-López J y Sánchez-Paz A (2012).** Experimental evidence of metabolic disturbance in the White shrimp *Penaeus vannamei* induced by the Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis VIRUS (IHHNV). *Journal of Invertebrates Pathology* 111:60-67.
- Garza J, Hasson W, Poulos B, Redman R, White B y Lightner D (1997).** Demonstration of infectious taura syndrome virus in the feces of seagulls collected during an epizootic in Texas. *Journal of Aquatic Animal Health* 9:156-159.
- Gibello A, Blanco M, Dominguez L y Fernandez F (2001).** Utilización de la PCR para el diagnóstico en ictiopatología. *Aquatic* 15:1-10.
- Giulianini P, Bierti G, Lorenzon M, Battistella S y Ferrero E (2007).** Ultrastructural and functional characterization of circulating hemocytes from the freshwater crayfish *Astacus leptodactylus*: Cell types and their role after in vivo artificial non-self challenge. *Micron* 38:49-57.

- González-Zuarth C, Vallarino A, Pérez-Jiménez J y Low-Pfeng A (2014).** Bioindicadores: Guardianes de Nuestro Futuro Ambiental. Colegio de la frontera Sur (ECOSUR) e Instituto de Ecología y Cambio Climático (INECC) primera edición México, 782.
- Gutiérrez-Salazar G (2011).** Patógenos en *Litopenaeus vannamei* Bonne, 1931 (Crustacea, Decápoda) en tres sistemas diferentes de cultivo y su asociación con parámetros fisicoquímicos y biológicos en Tamaulipas, México. Tesis de Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, 160.
- Guzmán-Sáenz F, Molina-Garza Z, Pérez-Castañeda R, Ibarra-Gámez J y Galaviz-Silca L (2009).** Virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV) y virus del síndrome de Taura (TSV) en camarón silvestres *Farfantepenaeus aztecus* Ives 1981 y *Litopenaeus setiferus* Linneaus 1767) de la Laguna Madre Golfo de México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44:663-672.
- Han-Ching W, Ikuo Hirono Mary, Bacano Maningas B y Kunlaya Somboonwiwat G (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Nimaviridae. *Journal of General Virology* 100:1053-1054.
- Hasson K (1998).** Taura Syndrome in Marine Penaeid Shrimp: Discovery of the viral Agent and Disease Characterization Studies. *Thesis for Doctor of philosophy dissertation*. University of Arizona, Tucson, AZ, 85721:365.
- Hasson K, Lightner D, Poulos B, Redman R, White B, Brock J y Bonami J (1995).** Taura Syndrome in *Penaeus vannamei*: demonstration of a viral etiology. *Diseases Aquatic Organism* 23:115-126.
- Hasson K, Lightner D, Mari J, Bonami J, Poulos B, Mohny L, Redman R y Brock J (1999).** The geographic distribution of Taura Syndrome Virus (TSV) in the Americas: determination by histopathology and in situ hybridization using TSV-specific cDNA probes. *Aquaculture* 171:13-26.

- Herbert B (1987).** Notes on Diseases and Epibionts of *Cherax quadricarinatus* and *C. tenuimanus* (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture* 64:165-173.
- Hernández-López J, Gollas-Galván T, Gómez-Jiménez S, Portillo-Clark G y Vargas-Albores F (2003).** In the spiny lobster (*Panulirus interruptus*) the prophenoloxidase is located in plasma not in haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology* 14:105-114.
- Hernández-Pérez A, Zamora-Briseño J, Pérez-Vega J, Mena-Loria R, Coronado-Molina D, Hernández-López J, López-Téllez N, Rodríguez-Canul R (2017).** Presence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in native shrimps from Southern Mexico. *Scientific Research Publishing* 7:424-432.
- Hochberg E (1990).** Diseases of Mollusca: Cephalopoda. Diseases caused by protistans and metazoan. Hamurgo: Biologische Anstalt Helgoland.
- Holmblad T y Söderhäll K (1999).** Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role in immunity. *Aquaculture* 172:111-123.
- Hudson D y Lester R (1992).** Relationships between water quality parameters and ectocomensal ciliates on prawns (*Penaeus japonicus* Bate) in aquaculture. *Aquaculture* 105:269-280.
- Hutton R, Sogandares B, Eldred B, Ingle R y Woodburn K (1959).** Investigation on the parasites and diseases of saltwater shrimp (Penaeidae) of sports and commercial importance to Florida Fla. St. Bd. Conserv. *Mar. lab. Tech Soc* 26:1-38.
- Inversen E y Van Meter L (1964).** A record of the microsporidian *Thelohania duorara* parasitizing the shrimp *Penaeus brasiliensis*. *Bulletin of Mariculture of Scientific Gulf Caribbean* 14:549-553.

- Jayakumar R y Ramasamy P (1999).** Bacterial and protozoan (Ciliate) diseases of prawn *Penaeus indicus* (Decapoda: Crustacea). *Indian Journal of Marine Sciences* 28:285-296.
- Jiménez-Cueto A (1999).** Parásitos de camarones silvestres y cultivados del estado de Yucatán, México. *Tesis de Maestría* CINVESTAV-Unidad Mérida, Yucatán, 39.
- Jiménez-García M (2003).** Estructura temporal de las comunidades de parásitos metazoarios en poblaciones silvestres y experimentales de cíclidos silvestres (*Cichlasoma urophthalmus*) e introducidos (*Oreochromis niloticus*) en Mitza, Yucatán. *Tesis de Doctorado* CINVESTAV-Unidad Mérida, Yucatán, 166.
- Jiménez-Guzmán F (2008).** Biología y manejo de enfermedades del camarón. Impreso con el propósito de capacitación técnica para el comité de sanidad acuícola de Tamaulipas A.C. Tampico Tamaulipas 13-16 de mayo 2008, 110.
- Jiravanichpaisal P, Lee B y Söderhäll K (2006).** Cell- mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology* 211:213-236.
- Johansson M, Keyser P, Sritunyalucksana K y Söderhäll K (2000).** Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191:45-52.
- Johnson S (1972).** *Epistylis* sp. Infestations on penaeid shrimp. *FAO Aquaculture Bulletin* 4:1-15.
- Kautsky N, Rönnbäck P, Tedengren M y Troell M (2000).** Ecosystem perspectives on management of diseases in shrimp pond farming. *Aquaculture* 191:145-161.
- Kruse D (1959).** Parasites of the commercial shrimps, *Penaeus aztecus* Ives, *P. duorarum* Burkenroad and *P. setiferus* Linnaeus. *Tulane Studies Zoology* 7: 123-144.
- Kudo R (1982).** Protozoología, Séptima edición. Compañía Editorial continental (CECSA). México, D. F: 523:815-816.

Kumar S, Stecher G y Tamura K (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33: 1870-1874.

Lafferty K (1999). The evolution of trophic transmission. *Parasitology Today* 15: 111-115.

Lafferty K, Drew C, Conrad J, Friedman C, Kent M, Kuris A, Powell E, Rondeau D y Saksida S (2015). Infectious diseases affect Marine fisheries and aquaculture economics. *The Annual Review of Marine Science is online at marine* 7:11.1-11.26.

Lightner D (1995). Taura syndrome: an economically important viral diseases impacting the shrimp farming industries of the Americas including the United States. In: Campbell P Associates (ed) Proceeding of the Ninety-ninth Annual Meeting USDAHA, Reno, NV. *Campbell and Associates, Richmond*, 36-52.

Lightner D (1996). A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid shrimp. *The World Aquaculture Society Louisiana State University, USA*: 350.

Lightner D (1996a). Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeis shrimp viruses in the Americas. *Rev. Scientific Technology Office International the Epizootiology* 15:579-601.

Lightner D (2005). Biosecurity in shrimp farming: Pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. *Journal of the World Aquaculture Society* 36: 229-248.

Lightner D (2011). Virus diseases of farmed shrimp in the western hemisphere (the Americas): A review. *Journal of Invertebrate Pathology* 106:110-130.

Lightner D y Chen Y (2002). Síndrome de Taura. www.oie.inf/fdc/eng/publicat/cardsspanish/4%581%5d.i.i.TAU-ezirev.doc. Consultado 18 de julio de 2013.

Lightner D y Fontaine C (1975). Some forms of gill disease in Penaeid shrimp. *Journal World Mariculture Society* 6: 347-365.

Lightner D, Redman R, Bell T y Brock J (1983). Detection of IHHN virus in *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei* imported in to Hawaii. *Journal World Mariculture Society* 14: 212-225.

Lightner D, Poulos B, Bruce L, Redman R, Nunan L, Pantoja C, Mairi J y Bonami J (1994). Development and application of genomic probes for use as diagnostic and research reagents for penaeid shrimp parvoviruses IHHN and HPV and Baculoviruses MBP and BP. U.S. Marine Shrimp Farming Program the Gulf Coast Research laboratory consortium. *Ocean Springs, Misissippi Special Publication* 1: 59-85.

Lightner D, Redman R, Poulos B, Nunan L, Mari J, Hasson K y Bonami J (1997). Taura Síndrome: etiology, pathology, hosts and geographic distribution, and detection methods. *New approaches to viral diseases of aquatic animals proceedings of the NRA workshop Jan. 21-24 Kyoto. Japan*, 190-205.

Lightner D, Redman R, Pantoja C, Tang K, Noble B, Schofield P, Mohny L, Nunan L y Navarro S (2012). Historic emergence, impact and status of shrimp pathogens in the Americas. *Journal of invertebrate Pathology* 110:174-183.

Liu B; Yu Z, Song X y Guan Y (2007). Studies on the transmission of WSSV (White spot syndrome virus) in juvenile *Marsupenaeus japonicas* via marine microalgae. *Journal Invertebrates Pathology* 95:87-92.

López-Ochoterena E (1963). Protozoarios Ciliados de México. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 6: 77-83.

López-Télez N, Rodríguez-Canul R, Corbalá-Bermejo J, Dorantes-López L, González G y Unzueta-Bustamante M (2015). Presencia de IHHNV en unidades productivas de camarón blanco *Penaeus vannamei*, Boone, del Golfo de México. *Agroproductividad* 3:10-14.

- López-Téllez N, Corbalá-Bermejo J, Bustamante-Unzueta M, Silva Ledezma L, Vidal-Martínez V y Rodríguez-Canul R (2019).** History, impacting status of infectious diseases of the Pacific White shrimp *Penaeus vannamei* (Bonne, 1831) cultivated in Mexico. *World Aquaculture Society* 2019:1-12.
- Lotz J (1997).** The effects of host size on virulence of Taura syndrome virus (TSV) to the marine shrimp *Penaeus vannamei* (crustacea: Penaeidae), *Diseases Aquatic Organism* 33:11-17.
- Luna L (1965).** Manual of Histology Staining Methods of the Armed Forces. Institute of Pathology. Edit. Mc Graw-Hil, 98.
- Macías-Rodríguez N, Mañón-Ríos N, Romero-Romero J, Camacho-Beltrán E, Magallanes-Tapia M, Leyva-López N, Hernández-López J, Magallón-Barajas J, Pérez-Enríquez R, González-Sánchez, Méndez-Lozano J (2014).** Prevalence of viral pathogens WSSV and IHHNV in wild organisms at pacific coast of Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology* 116:8-12.
- Marmolejo-Guzmán L (2018).** Caracterización morfológica y molecular de los cestodos de *Octopus maya* Voss y Solís 1966, en la Península de Yucatán. Tesis de Maestría CINVESTAV-Unidad Mérida, 86.
- Martínez-Murillo M y Aladro-Lubel M (1994).** Ciliados asociados al pasto marino *Halodule beaudettei* en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Autónoma de México. *Serie Zoología* 65:11-18.
- Mas E, Poza J., Ciriza J, Zaragoza P, Osta R y Rodellar C (2001).** Fundamento de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Aquatic* 15:1-7.
- May-Ku M (1999).** Características Biológicas y ecológicas de los juveniles de camarón del género *Farfantepenaeus* en el área oeste de la laguna costera de Río lagartos, Yucatán. *Tesis de*

maestría. CINVESTAV-Mérida, 108.

Mayén-Estrada R (1997). Ciliados Asociados a *Cambarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 del lago de Pátzcuaro, Michoacán. *Tesis de doctorado*, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 238.

Messick G (1994). *Hematodinium perezii* infections in adult and juvenile blue crabs *Callinectes sapidus* from coastal bays of Maryland and Virginia, USA, Dis, Aquat. Org 19:77-82.

Morales-Covarrubias M, Nunan L, Lightner D, Mota-Urbina J, Aguirre-Garza M y C Chávez-Sánchez C (1999). Prevalence of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in wild adult blue shrimp *Penaeus stylirostris* from the Northern Gulf of California, Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health* 11:296-301.

Morales V y Cuéllar-Anjel J (2014). Guía Técnica Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. Segunda edición, OIRSA, Panamá, 382.

Moravec F (1992). Methods of investigating metazoan parasites. Training Course of Fish Parasites. *Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences* March 10, 23

Moravec F, Vidal-Martínez V y Aguirre-Macedo M (1997). Some helminth parasites of *Epinephelus morio* (Pisces: Serranidae) from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Studies on the Natural History of the Caribbean Region* 72:55-68.

Motte E, Yugcha E, Luzardo J, Castro F, Leclercq G, Rodríguez J, Miranda P, Borja O, Serrano H, Terreros M, Montalvo K, Narváez A, Tenorio N, Cedeño V, Maralhe E y Boulo V (2003). Prevention of IHHNV vertical transmission in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 219:57-70.

NCBI (2018). Basic local alignment search tool. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Consultado 28 enero 2018)

Nei M y Kumar S (2000). Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York, NY.

NOM-011-PESC-1993. Para regular la aplicación de cuarentenas a efecto de prevenir la introducción y dispersión de enfermedades certificables y notificable, en la importación de organismos acuáticos vivos en cualquiera de sus fases de desarrollo destinados a la acuicultura y ornato en los Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación. Consultado 16 de agosto de 2017.

NOM-020-PESC-1993. Que acredita las técnicas para la identificación de agentes patógenos causales de enfermedades en los organismos acuáticos vivos cultivados, silvestres y de ornato en México. Consultado 16 de agosto de 2017.

NOM-022-PESC-1994. Que establece las regulaciones de higiene y su control, así como la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos en las instalaciones y procesos de las granjas acuícolas. Consultado 16 de agosto de 2017.

NOM-EM-001-PESC-1999. Establece los requisitos y medidas para prevenir y controlar la introducción y dispersión de las enfermedades virales denominadas Mancha Blanca (WSVB) y cabeza amarilla (YHV). Diario Oficial Consultado 16 de agosto de 2017.

NOM-030-PESC-2000. Que establece los requisitos para determinar la presencia de enfermedades virales de crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos o subproductos en cualquier presentación y *Artemia* (*Artemia* spp.), para su introducción al territorio nacional y movilización en el mismo. Diario Oficial Consultado 16 de agosto de 2017.

Nunan L, Poulos B y Lightner D (1998). The Detection of White Spot Síndrome Virus (WSSV) and Yellow Head Virus (YHV) in Imported Commodity Shrimp. *Aquaculture* 160:19-30.

- Olivas-Valdez J, Cáceres-Martínez J y Vázquez Yeómans R (2010).** Patógenos que afectan el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en ambientes marinos y dulceacuícolas en el estado de Baja California, México. *Revista electrónica de Veterinaria* 11:1695-7504.
- OIE (2003).** Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases. 4th edition, 2003. Office International des Epizooties, Paris France, 237.
- OIE (2018)** <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-la-lista-de-la-oie-2018/>. Consultado 8 mayo 2018.
- Overstreet R (1973).** Parasites of some penaeid shrimp with emphasis on reared hosts. *Aquaculture* 2:105-140.
- Overstreet R (1979).** Crustacean health research at Gulf Coast research laboratory. In proceedings of the second biennial crustacean health workshop. *Texas A & M University, College Station*, 300-314.
- Overstreet R, Lightner D, Hasson K, McIlwain S y Lotz J (1997).** Susceptibility to taura syndrome virus of some penaeis shrimp species native to the Gulf of Mexico and the southeastern United States. *Journal of Invertebrate Pathology* 69:165-176.
- Pantoja C y Lightner D (1993).** Similarity between the histopathology of whites spot syndrome virus and it's relevant to diagnosis of YHV diseases in the Americas. *Aquaculture* 218:47-54.
- Peeler R (2012).** Cost and benefits of freedom from shrimp diseases in the European Union. *Journal of Invertebrate pathology* 106:88-195.
- Pérez-Castañeda R y Defeo O (2000).** Population structure of the penaeid shrimp *Farfantepenaeus notialis* in its new range extension for the Gulf of México. *Bulletin of Marine Science* 67:1069-1074.

- Pérez-Castañeda R y Defeo O (2001).** Population Variability of Four Sympatric Penaeid Shrimps (*Farfantepenaeus* spp.) in a Tropical Coastal Lagoon of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52:631-641.
- Pérez-Farfante I (1969).** Western Atlantic shrimp of the genus *Penaeus*. *Fisheries Bulletin* 67: 461-591.
- Pérez-Farfante I (1970).** Claves Ilustradas para la Identificación de los Camarones Comerciales de América Latina. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras. México, 47.
- Pérez-Farfante I (1971).** Características diagnosticas de los juveniles de *Penaeus aztecus subtilis*, *P. duorarum notialis* y *P. brasiliensis* (Crustácea Decápoda Penaeidae). *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle* 44:159-182.
- Pérez-Farfante I. (1978).** Family Penaeidae, In: Fisher, W., FAO Identification sheet for fishery purposes, Western Central Atlantic (Fishery area 31) Vol. VI-Penaeidae, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Roma, Italia, 84.
- Pérez-Farfante I (1988).** Illustrated key to penaei shrimp of commerce in the Americas. NOAA *Technical Report NMFS* 64:1-32.
- Pérez-Ponce de León G (1992).** *Helicometrina nimia* Linton, 1910, Parasito de *Bothus lunatus* de Puerto Morelos, Q. Roo, México. *Anales Instituto de Biología de la UNAM serie Zoología* 63:147-150.
- Poulos B, Lightner D, Trumper B y Bonami J (1994).** Monoclonal Antibodies to a Penaeid shrimp parvovirus, infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV). *Journal of Aquatic Animal Health* 6:149-154.

- Robles-Sikisaka R, Bohonak A, McClenaghan L y Dhar A (2010).** Genetic signature of rapid IHNV (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus) expansion in wild *Penaeus* shrimp populations. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20668694/> Consultado 18 enero 2017.
- Sánchez-Paz A, Mendoza-Cano F, Hernández-Pérez A y Galván-Gollas D (2010).** Virus: gran amenaza para el camarón. *Ciencia y Desarrollo* 36: 54-59.
- Scholz T, Vargas-Vázquez J, Moravec F, Vivas-Rodríguez C y Mendoza-Franco E (1996).** Cestoda and acantocephala of fishes from cenotes (=sinkholes) of Yucatan, Mexico. *Folia Parasitologica* 43: 141-152.
- Schuwerack P, Lewis J y Jones P (2001).** Pathological and physiological changes in the South African freshwater crab *Potamonautes warreni* calman induced by microbial gill infestations. *Journal Invertebrates Pathology* 77:269-79.
- Scott J y Thune R (1986).** Ectocommensal protozoan infestations of gills of red swamp crawfish, *Procambarus clarkii* (Girard), from commercial ponds. *Aquaculture* 55: 161-164.
- SIGMA Aldrich (2002).** WWW.sigmaaldrich.com. Consultado 22de enero 2013.
- Sleigh M y Lynn D (1985).** Protozoa and other parasites. *Cambridge Univ. Press.* N.Y., 342.
- Söderhäll I (2016).** Crustacean hematopoiesis. *Developmental and Comparative Immunology* 58: 129-141.
- Söderhäll K y Cerenius L (1992).** Crustacean immunity. *Annual Review of Fish Diseases* 2: 3-23.
- Sokal R y Rohlf J (1995).** Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. *W. F. Freeman and Company.* N.Y. Third edition, 887.

- Stentiford G, Neil D y Atkinson R (2001).** Alteration of burrow-related behaviour of the Norwaylobster, *Nephrops norvegicus* during infection by the parasitic dinoflagellate *Hematodinium*. *Mar, Freswatwer Behav. Physiol* 34: 139-156.
- Stentiford G, Neil D, Peeler E, Shields J, Small H y Flegel T (2012).** “Disease will limit future food supply from the global crustacean fishery and aquaculture sectors”. *Journal of invertebrate pathology* 2:141-157.
- Stephen F y Nelsen M (1977).** The Protargol staining technique: an improved version for *Tetrahymena pyriformis*. *Transactions of the American Microscopical Society* 96: 369-376.
- Tang K y Lightner D (2006).** Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in the genome of the black tiger pawn *Penaeus monodon* from Africa and Australia. *Virus Res* 118: 185-191.
- Tang K, Durand S, White B, Redman R, Mohny L y Lightner D (2003).** Induced resistance to white spot syndrome virus infection in *Penaeus stylirostris* through pre-infection with infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus – a preliminary study. *Aquaculture* 216: 19-29.
- Tassanakajon A, Rimphanitchayakit V, Visetnan S, Amparyup P, Somboonwivat K, Charoensapsri W y Tang S (2018).** Shrimp humoral responses against pathogens: antimicrobial peptides and melanization. *Developmental and Comparative Immunology* 80: 81-93.
- Thompson J Gibson T, Plewniak F, Jeanmougin F y Higgins D (1997).** The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25: 4876-4882
- Turner P, McLennan A, Bates A y White M (1998).** Instant Notes in Molecular Biology. *School of Biological Sciences*, University of Liverpool, UK. First edition, 307.

- Uribarren Berrueta T (2016).** Generalidades de Cestodos. México: UNAM
- Van de Braak C, Botterblom M, Liu W, Taverne N, van der Knaap W y Rombout J (2002).** The role of the haematopoietic tissue in haemocyte production and maturation in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish & Shellfish Immunology* 12: 253–272.
- Valdés-Murillo A (2010).** Helmintos parásitos en poblaciones silvestres de *Farfantepenaeus aztecus* en el estera de la Mata Veracruz, México. *Tesis de Maestría* en manejo de ecosistemas marinos y costeros. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana, 94.
- Vallejo-Isaza A y Newmark F (1999).** Estudio epizootiológico de *Penaeus vannamei* en tres fincas camaroneras del Caribe colombiano. *Boletín de Investigación Marina Costera* 28: 19-42.
- Venkatesan V, Chandra S y Srinivasan R (1981).** A report on the infestation of peritrich ciliates *Zoothamnium* sp. and *Epistylis* sp. on pond cultured tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. *Journal of the Inland Fisheries Society India* 13: 107-109.
- Vidal-Martínez V, Jiménez-Cueto A y Simá-Álvarez R (2002).** Parasites and symbionts of native and cultured shrimps from Yucatán, México. *Journal of Aquatic Animal Health* 14: 57-64.
- Vidal-Martínez V y Poulin D (2003).** Spatial and temporal repeatability in parasite community structure of tropical fish host. *Parasitology* 127: 387-398.
- Vidal-Martínez V, Pech D, Sures B, Purucker S y Poulin D (2010).** Can parasites really reveal environmental impact? *Trends in Parasitology* 26:44-51.
- Villela J, Inversen E y Sinderman C (1970).** Comparison of the parasites of pond-reared and wild pink shrimp (*P. duorarum*) in South Florida. *Transactions of the American Fisheries Society* 99: 789-794.

Wakida-Kusunuki A, Amador Del Angel L y Carrillo-Alejandro P (2011). Íctiofauna y especies invasores en el complejo lagunar Carmen, Pajonal y Machona, Tabasco, México. Segundo symposium para el conocimiento de los recursos costeros del sureste de México. Ciudad del Carmen, Campeche, México del 6 al 10 de Junio de 2011. https://www.researchgate.net/publication/236151680_Ictiofauna_y_especies_invasores_en_el_complejo_lagunar_Carmen_Pajonal_y_Machona_Tabasco_Mexico. Consultado 2 marzo 2020.

Walker P, Cowley J, Spann K, Hodgson R, Hall M y Withyachumnarnkul B (2001). Yellow head complex viruses: Transmission cycles and topographical distribution in the Asia Pacific Region. In: The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001, Browdy C.L. & Jory D.E., eds. *The World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA, USA, 292-302.

Wigglesworth J (1994). Taura Syndrome hits Ecuador farms. *Fisheries Farmer* 17: 30-31.

Woodburn K, Eldred E, Clark R, Hutton R e Ingle R (1957). The bait shrimp industry of the west coast of Florida (Cedar Key to Naples). *Fla. St. Bd. Conserv. Mar. Lab., Tech. Ser.* 21: 33.

WoRMS (2019). World Register of Marine Species. <http://www.marinespecies.org/>. Consultado 18 de enero 2019.

Xu D, Liu W, Alvarez A y Tianzhi H (2014). Cellular immune responses against viral pathogens in shrimp. *Developmental and Comparative Immunology* 47: 287-297.

Yamagutti S (1971). Synopsis of digenetic tremátodos of vertebrates. Part. I: Digenea of fish. *Keigaku publishing Co.* Tokio, Japón, 699.

Yamagutti S (1975). A synoptical review of life history of digenetic trematodes of vertebrates. Tokyo, *Keigaku Publishing Co.* Tokio, Japón, 590.

Zarain-Herzberg M y Ascencio-Valle F (2001). Taura síndrome in México: follow-up study in shrimp farms of Sinaloa. *Aquaculture* 193: 1-9.

Zarain-Herzberg M, Hernández-Saavedra N y Ascencio-Valle F (2003). Biological Characterization of a Less Virulent Taura Síndrome in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda): Gross Signs, Histopathological Lesions and Mortalities. *Journal of the World Aquaculture Society* 34:99-105.