

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en *Litopenaeus vannamei* de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas

AUTORA

Castro Rivera Danae Milena

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

TUTOR:

Ing. Kuffó García Alfonso, M. Sc.

Guayaquil, Ecuador

Marzo, 2020



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo de titulación fue realizado en su totalidad por **Castro Rivera Danae Milena**, como requerimiento para la obtención del título de **Médica Veterinaria Zootecnista**.

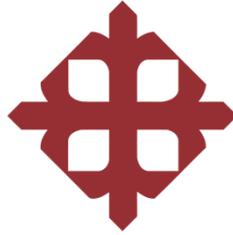
TUTOR

Ing. Kuffó García Alfonso, M. Sc.

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. Franco Rodríguez John Eloy, Ph.D.

Guayaquil, a los 2 días del mes de marzo del año 2020



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERIARIA Y ZOOTECNIA**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Castro Rivera Danae Milena**

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación, **Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en *Litopenaeus vannamei* de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas**, previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria Zootecnista**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 2 días del mes de marzo del año 2020

LA AUTORA

Castro Rivera Danae Milena



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

AUTORIZACIÓN

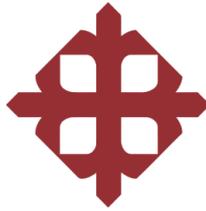
Yo, **Castro Rivera Danae Milena**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación, **Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en *Litopenaeus vannamei* de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 2 días del mes de marzo del año 2020

LA AUTORA

Castro Rivera Danae Milena



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CERTIFICACIÓN URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Titulación “**Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en *Litopenaeus vannamei* de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas**”, presentada por la estudiante **Castro Rivera Danae Milena**, de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia**, obtuvo el resultado del programa URKUND el valor de 0 %, considerando ser aprobada por esta dirección.

URKUND	
Documento	Castro Rivera_D.UTE B 2019 TT.docx (D63727957)
Presentado	2020-02-10 22:48 (-05:00)
Presentado por	ute.fetd@gmail.com
Recibido	noelia.caicedo.ucsg@analysis.orkund.com
	0% de estas 26 páginas, se componen de texto presente en 0 fuentes.

Fuente: URKUND-Usuario Caicedo Coello, 2020

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, Ph. D.
Director Carreras Agropecuarias
UCSG-FETD

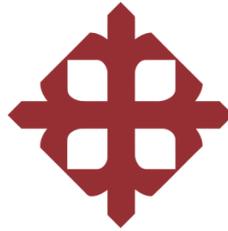
Ing. Noelia Caicedo Coello, M. Sc.
Revisora - URKUND

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer inmensamente al Dr. Pablo Intriago, que me dio la apertura para realizar este trabajo en las instalaciones del laboratorio de genética de Empagran S.A. También al Biólogo Andrés Medina por enseñarme todo lo aprendido en el área de PCR y hacerme dar cuenta a lo que quiero dedicarme como profesional. A la Dra. Lucila Sylva, mi “tutora”, por ser mi guía en todo el proceso de este trabajo. Por supuesto quiero agradecer a mis mejores amigos: Andreita, Karlita, Andreita Doylet, Henry, Fadul y Alec por su apoyo incondicional en mis lloraderas y momentos felices, los amo un montón chicos. Obvio también a Isbek, Thammy y mis compañeros de curso que hicieron de la universidad una experiencia increíble.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi hermosa familia. A mi mamita, papi, ñaña y ñaño, por ser mi motivación para salir adelante siempre, por ellos soy quien soy. Pero en especial quiero dedicarte este trabajo a ti papi, por ser mi mayor ejemplo de superación y modelo a seguir. Gracias por todos y cada uno de tus esfuerzos, por alentarme siempre a seguir mis sueños, sin ti no estaría donde estoy ahora. Espero poder siempre ser tu orgullo, aunque sé que ya lo soy por el simple hecho de ser tu hija. Esto es solo el comienzo. Te amo.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

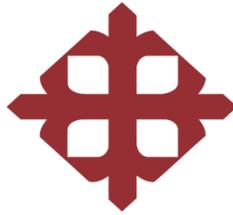
**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Kuffó García Alfonso, M. Sc.
TUTOR

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph. D.
DIRECTOR DE CARRERA

Dr. Carlos Manzo Fernández, M.Sc.
COORDINADOR DE CARRERA



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CALIFICACIÓN

Ing. Kuffó García Alfonso, M. Sc.

TUTOR

ÍNDICE GENERAL

1 INTRODUCCIÓN	2
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo general.....	3
1.1.2 Objetivos específicos.....	3
1.2 Hipótesis.....	4
2 MARCO TEÓRICO	5
2.1 Especies de camarones más producidas en Ecuador.....	5
2.2 Taxonomía del camarón blanco	5
2.3 Anatomía del camarón blanco.....	6
2.4 Ciclo de vida del camarón	6
2.5 Producción del camarón en el Ecuador.....	8
2.6 Calidad de agua en cultivo de camarón	9
2.6.1 Temperatura.	9
2.6.2 Salinidad.....	10
2.6.3 El pH.....	10
2.6.4 Oxígeno y saturación	11
2.7 Generalidades de enfermedades comunes presentes en el camarón blanco.....	11
2.8 Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética	12
2.8.1 Agente patógeno.....	12
2.8.2 Especies susceptibles.....	13
2.8.3 Fases susceptibles.	13
2.8.4 Mecanismos de transmisión.	13
2.8.5 Mortalidad y morbilidad.....	14
2.9 Métodos de detección de virus.....	14
2.9.1 Muestreo.....	15
2.9.2 Preparación de las muestras.	15
2.9.3 Histopatología.....	16
2.9.4 Técnicas moleculares.	16

2.10 Reacción en cadena de la polimerasa para el Virus de la Necrosis Hipopérmica y Hematopoyética Infecciosa.	17
3 MARCO METODOLÓGICO.....	18
3.1 Ubicación del ensayo	18
3.2 Duración del Proyecto	18
3.3 Materiales.....	18
3.3.1 Equipos.....	18
3.3.2 Materiales.	19
3.4 Población de estudio	19
3.5 Protocolo del estudio.....	20
3.6 Variables en estudio.....	22
3.6.1 IHHNV.....	22
3.6.2 pH.	22
3.6.3 Temperatura.	22
3.6.4 Salinidad.....	22
3.6.5 Oxígeno.	23
3.6.6 Saturación.....	23
3.6.7 Postlarvas.	23
3.6.8 Maduración.	23
3.6.9 Camaronera.....	23
3.7 Diseño experimental.....	23
3.8 Análisis de datos	23
3.9 Análisis estadístico.....	24
4 RESULTADOS	25
4.1 Presencia del IHHNV por categoría.....	25
4.1.1 Presencia del IHHNV en postlarvas.....	25
4.2 Temperatura en casos de IHHNV.....	27
4.2.1 Temperatura en casos de IHHNV en postlarvas.....	27
4.2.2 Temperatura en casos de IHHNV en maduración.	28
4.2.3 Temperatura en casos de IHHNV en camaronera.	28

4.3 Salinidad en casos de IHHNV	29
4.3.1 Salinidad en casos de IHHNV en postlarvas.	29
4.3.2 Salinidad en casos de IHHNV en maduración.	30
4.3.3 Salinidad en casos de IHHNV en camaronera.....	30
4.4 pH en casos de IHHNV	31
4.4.1 pH en casos de IHHNV en postlarvas.....	31
4.4.2 pH en casos de IHHNV en maduración.	32
4.4.3 pH en casos de IHHNV en camaronera.....	32
4.5 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV	33
4.5.1 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en postlarvas.	33
4.5.2 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en maduración	34
4.5.3 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en camaronera.....	35
4.6 Prevalencia del IHHNV.....	35
4.6.1 Frecuencia del IHHNV en postlarvas.	35
4.6.2 Frecuencia del IHHNV en maduración.....	36
4.6.3 Frecuencia del IHHNV en camaronera.	37
4.6.4 Prevalencia del IHHNV en el total de casos.	37
4.7 Influencia de las variables en la presencia del IHHNV	38
4.7.1 Frecuencia del IHHNV en relación con la temperatura.....	38
4.7.2 Frecuencia del IHHNV en relación con la salinidad.	39
4.7.3 Frecuencia del IHHNV en relación con el pH.....	40
4.7.4 Frecuencia del IHHNV en relación con el oxígeno.....	41
4.7.5 Frecuencia del IHHNV en relación con la saturación.....	42
5 DISCUSIÓN	44
6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
6.1 Conclusiones.....	46
6.2 Recomendaciones.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con la temperatura.....	39
Tabla 2. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con la salinidad.....	40
Tabla 3. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con el pH.....	41
Tabla 4. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con el oxígeno.....	42
Tabla 5. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con la temperatura.....	43

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Ciclo de vida del camarón	8
Gráfico 2. Ubicación del laboratorio de genética del grupo Empagran S.A.	18
Gráfico 3. Presencia del IHHNV en postlarvas	25
Gráfico 4. Presencia del IHHNV en maduración	26
Gráfico 5. Presencia del IHHNV en camaronera.....	27
Gráfico 6. Temperatura en casos de IHHNV en postlarvas	27
Gráfico 7. Temperatura en casos de IHHNV en maduración	28
Gráfico 8. Temperatura en casos de IHHNV en camaronera.....	29
Gráfico 9. Salinidad en casos de IHHNV en postlarvas	29
Gráfico 10. Salinidad en casos de IHHNV en maduración.....	30
Gráfico 11. Salinidad en casos de IHHNV en camaronera	31
Gráfico 12. pH en casos de IHHNV en postlarvas	31
Gráfico 13. pH en casos de IHHNV en maduración.....	32
Gráfico 14. pH en casos de IHHNV en camaronera	33
Gráfico 15. Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en postlarvas	34
Gráfico 16. Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en maduración.....	34
Gráfico 17. Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en camaronera	35
Gráfico 18. Frecuencia en casos de IHHNV en postlarvas	36
Gráfico 19. Frecuencia en casos de IHHNV en maduración.....	36
Gráfico 20. Frecuencia en casos de IHHNV en camaronera	37
Gráfico 21. Prevalencia del IHHNV en el total de casos	38
Gráfico 22. Frecuencia del IHHNV en relación con la temperatura.....	38

Gráfico 23. Frecuencia del IHHNV en relación con la salinidad.....	39
Gráfico 24. Frecuencia del IHHNV en relación con el pH	40
Gráfico 25. Frecuencia del IHHNV en relación con el oxígeno	41
Gráfico 26. Frecuencia del IHHNV en relación con la saturación	42

RESUMEN

Este proyecto tuvo lugar en el laboratorio de genética perteneciente al departamento de investigación y desarrollo en el área de biología molecular de la empresa Empagran S.A que está ubicado en el km 19.5 vía a la costa en la provincia del Guayas. Se contó con un total de 100 muestras de *Litopenaeus vannamei*, las cuales se distribuyeron en 3 estadios: postlarvas, animales de maduración y animales de camaronera. El objetivo del proyecto fue evaluar la presencia del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa y correlacionarlo con las diferentes variables escogidas (temperatura, salinidad, pH, oxígeno y saturación). Se usó el kit de IQ2000 IHHNV (anidada) para la PCR como método de análisis. Al finalizar el proyecto y realizar los respectivos análisis se concluyó que la prevalencia del IHHNV fue baja y que las variables sí influyeron en la presencia del virus con excepción de la saturación. En cuanto a la comunidad camaronera, se recomienda un mejor control y optar por pruebas más sensibles y precisas para la detección de enfermedades.

Palabras Clave: IHHNV, *Litopenaeus vannamei*, parámetros, PCR, IQ2000, anidada

ABSTRACT

This project took place in the genetics laboratory belonging to the research and development department in the molecular biology area of Empagran S.A, which is located at km 19.5 via a la costa in the province of Guayas. There was a total of 100 samples of *Litopenaeus vannamei*, which were distributed in 3 stages: postlarvae, maturation animals and shrimp farm animals. The goal of the project was to evaluate the presence of infectious hypodermic and hematopoietic necrosis virus and correlate it with the different variables chosen (temperature, salinity, pH, oxygen and saturation). The IQ2000 IHHNV kit (nested) was used for PCR as an analysis method. At the end of the project and performing the analysis, it was concluded that the prevalence of IHHNV was low and that the variables did influence the presence of the virus with the exception of saturation. As for the shrimp farmers and people involved in this field, a better control is recommended and also opt for more sensitive and accurate tests for disease detection.

Key words: IHHNV, *Litopenaeus vannamei*, parameters, PCR, IQ2000, nested

1 INTRODUCCIÓN

El camarón blanco es un crustáceo originario del Oriente del Océano Pacífico, desde Sonora, México al Norte, hacia Centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, vive en hábitats tropicales con fondos lodosos en donde la temperatura del agua marina es normalmente mayor a los 20 °C durante todo el año.

Ejemplares de Panamá fueron introducidos por primera vez a Florida para su producción, llegando así hasta Asia y América Latina. La camaronicultura es una de las actividades productivas con un crecimiento importante a través de las exportaciones de productos pesqueros a nivel mundial, convirtiendo al camarón en el producto pesquero y acuícola de exportación importante para muchos países.

En Ecuador, la industria camaronera tiene su auge a finales de la década de los cincuenta en un ámbito artesanal, para luego desplazarse al ámbito industrial y convertirse en una importante fuente generadora de empleos y de divisas para la economía del país. En los ochenta, esta actividad creció agresivamente y en 1987 el Ecuador fue el primer exportador de camarón del mundo.

Como en cualquier tipo de producción, se pueden encontrar factores que afectan a la misma. Las principales enfermedades en el camarón se iniciaron al confinar esta especie de las cuales tenemos a la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV), síndrome de Taura (TSV), síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), Necrosis Baculoviral de la Glándula del Intestino Medio y la Vibriosis.

Las infecciones por Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética son más graves en *Litopenaeus stylirostris*, en donde las

mortalidades pueden ser mayores al 90 %. Por otro lado, en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*, la infección solo ocasiona enanismo y rostrum deforme. Esto último, de igual manera provoca preocupación en los productores ya que el bajo crecimiento, incrementa la tasa de conversión alimenticia, generando disparidad de tallas al momento de la cosecha lo cual se verá reflejado en las utilidades esperadas.

Actualmente el sector camaronero ecuatoriano se encuentra preocupado por la incidencia de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética que afecta a la exportación de camarón blanco, ya que al registrarse en los camarones esta enfermedad las entidades encargadas de la regulación de exportaciones impiden que el producto pueda ser comercializado. A nivel de laboratorios se realizan estos análisis dando positivos en algunas muestras y en otras no, por lo cual es de suma importancia diferenciar la técnica de PCR para determinar la presencia o ausencia del virus en los diferentes estadios que conllevan en el proceso de producción de larvas de camarón en laboratorio.

Por lo expuesto, el Trabajo de Titulación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

Evaluar la presencia del virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética en las diferentes etapas de producción comercial del camarón.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Determinar la presencia del virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética en las diferentes etapas de producción comercial del camarón.

- Evaluar las variables (temperatura, salinidad, pH, oxígeno, y saturación) que influyen en la presencia del virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética en las diferentes etapas de producción comercial del camarón.
- Correlacionar la presencia del virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética con las variables establecidas.

1.2 Hipótesis

La presencia del virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética en el camarón es causada por un manejo técnico inadecuado en su producción.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Especies de camarones más producidas en Ecuador

En nuestro país hay 2 especies de camarón que se producen:

- *Litopenaeus vannamei* o camarón blanco: ser una de las más resistentes en cuanto a variaciones medioambientales en su producción, lo convierte en la principal especie de cultivo en la costa del Ecuador. Algunas de sus características son su color blanquecino a amarillento con la parte dorsal del caparazón un poco más oscura, también suele habitar en aguas con fondos lodosos.
- *Litopenaeus stylirostris*: es la segunda especie mayor producida en las costas del Pacífico, conformando cerca del 5 % de la producción total de camarón en el país (Peña, 2017).

2.2 Taxonomía del camarón blanco

De acuerdo con Pérez – Farfante y Kensley (1997), la descripción taxonómica del camarón blanco es la siguiente:

Phylum:	<i>Arthropoda</i>
Clase:	<i>Malacostraca</i>
Orden:	<i>Decapoda</i>
Suborden:	<i>Dendobranchiata</i>
Superfamilia:	<i>Penaeoidea</i>
Familia:	<i>Penaeidae</i>
Género:	<i>Litopenaeus</i>
Especie:	<i>vannamei</i>

2.3 Anatomía del camarón blanco

Se van a distinguir 3 segmentos principales:

- Cefalotórax: está conformado por apéndices, los cuales son las anténulas, antenas, maxilas, pereiópodos, maxilípedos y mandíbulas. Es el segmento con mayor actividad metabólica.
- Abdomen: lo constituyen 6 segmentos, los cuales poseen un par de apéndices conocidos como pleópodos, los cuales sirven para la natación.
- Telson: formado por los urópodos, que también tienen función natatoria (Leal, 2010).

2.4 Ciclo de vida del camarón

El ciclo de vida se puede clasificar en 6 fases: embrionaria, larval, juvenil, adolescente, pre-adulta y adulta (Rivera, 1998).

Nauplio, se conoce cuando el huevo libera una larva típica de los crustáceos. A medida que crece, su cuerpo se alarga haciendo visibles la anténula y antena. Su proceso varía entre 8 a 12 horas y 2 días (Morán, 2017).

Zoea, tiene 3 sub estadíos los cuales se diferencian por sus respectivas mudas y cambios morfológicos. El cuerpo se divide principalmente en dos partes: un abdomen sin segmentos y un caparazón de forma hexagonal irregular con un tórax dividido en 6 segmentos en la porción posterior (Rivera, 1998).

Mysis, se caracteriza por tener un cuerpo alargado más parecido a un camarón, con pereiópodos funcionales y completamente desarrollados, sin pleópodos. En este estadío se encuentran 3 fases; la primera el animal ya tiene el cuerpo parecido a un camarón, en la segunda fase posee escama antenal conspicua con espina externa, pereiópodos funcionales del primero

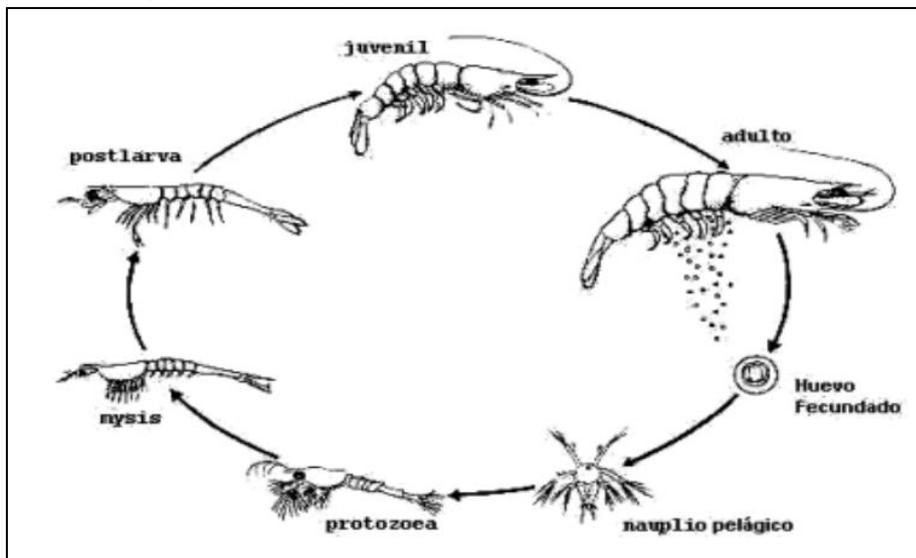
al tercero con quela rudimentario y pleópodos rudimentarios, ya en la tercera fase posee un flagelo de la antena que sobrepasa o alcanza la escama. El desarrollo dura entre 3 a 4 días (Morán, 2017).

Postlarva, es donde los camarones ya son totalmente funcionales, se asemejan a un camarón adulto en miniatura, hacen uso de sus pleópodos para arrastrarse y agarrarse. Su alimentación se basa principalmente de artemia (*Artemia salina*), algas y dietas artificiales (Burgos, Molestina y Almeida, 2016).

Juvenil, con características puntuales, color pardo que puede variar, el número de dientes rostrales no es el definitivo, cuando alcanzan los 30 a 35 mm se puede observar que la hembra tiene mayor crecimiento que el macho (FAO, 2019).

Adulto, se caracteriza ya que el rostro posee de 8 a 9 dientes en su cresta dorsal y 2 dientes en la ventral. Su longitud va desde los 25 a 50 mm, son dorados con algunas manchas rojizas pequeñas, sus antenas son de color rojo vibrante, que es lo que permite distinguir a esta especie (Dávila, Uquillas y Zorrilla, 2013).

Gráfico 1. Ciclo de vida del camarón



Fuente: Meyer, 2004

2.5 Producción del camarón en el Ecuador

Ecuador tiene altos estándares para producir camarón exportable de alta calidad. Debido a esto las granjas de cría de camarones ecuatorianas son muy bien valoradas. En este proceso, el camarón atraviesa diferentes etapas antes de llegar a los platos de los consumidores. Desde los laboratorios de maduración hasta su venta en mercados minoristas (Montoya, 2018).

En los últimos años los volúmenes de producción acuícola en el país se dispararon y el destino de las exportaciones cambió drásticamente; en el pasado la Unión Europea y los Estados Unidos eran los más representativos, pero actualmente Asia se ha convertido en nuestro principal comprador. Se estima que este mercado importa alrededor del 60 por ciento de la producción total de camarón de Ecuador, el año pasado la demanda de China aumentó un 434 % con relación al 2017, según datos del Banco Central (Vistazo, 2019).

El sector camaronero concluyó el 2019 con las cifras más altas desde que esta actividad tuvo su auge hace 50 años. Desde el mes de enero al mes de noviembre se exportaron 1291.5 millones de libras, esto representa

un incremento del 27 % si se lo compara con el mismo período del año 2018. La significancia de este volumen fue de \$ 3375.4 millones de ingresos según la Cámara Nacional de Acuicultura (Alvarado, 2020).

En el país no hay registros de la cantidad de camarón que consumen los ecuatorianos, Yahira Piedrahita, directora ejecutiva de la Cámara Nacional de Acuicultura, indica que cerca del 5 % de lo que producen las emparadoras se queda en el país (El Telégrafo, 2017).

2.6 Calidad de agua en cultivo de camarón

Se puede definir a la calidad del agua como la composición físico-químico. Un agua es considerada de calidad, cuando sus características la hacen aceptable para un cierto uso, determinándose por análisis cuantitativos en laboratorio (Jara, 2015).

Las muestras de agua recolectadas de piscinas se comparan con estándares de calidad de agua, en donde se determinan las características físicas y químicas de esta. Es importante resaltar que la calidad del agua viene a estar determinada por la erosión del sustrato mineral, los procesos atmosféricos de evapotranspiración y sedimentación de lodos y sales, la lixiviación natural de la materia orgánica y los nutrientes del suelo por los factores hidrológicos, y los procesos biológicos en el medio acuático que pueden alterar la composición física y química del agua (ONU, 2019).

2.6.1 Temperatura.

Como los camarones no pueden mantener su temperatura elevada o a un nivel constante son considerados como organismos heterotérmicos o poiquilotérmicos (de sangre fría), esto quiere decir que la temperatura del agua en la que habitan es el reflejo de su temperatura corporal; como consecuencia la temperatura influye mucho en el ritmo de crecimiento y la tasa metabólica de estos (Meyer, 2004).

La temperatura posee un gran impacto en procesos biológicos como crecimiento y respiración, los cuales se duplican al aumentar la temperatura del estanque, es decir, por cada que aumenta 10°C la temperatura aumenta el consumo de OD y crecimiento, esto significa que el camarón crece dos veces más rápido y consume el doble de oxígeno a 30 °C que a 20 °C, por lo que el requerimiento de oxígeno disuelto es más crítico en temperaturas cálidas que en las frías (Ulloa, 2015).

2.6.2 Salinidad.

La salinidad hace referencia a la concentración total de iones disueltos en el agua. Influye mucho en el bienestar del cultivo acuático y en el ritmo de crecimiento y a tasa de mortalidad de los camarones (IDECAP, 2017).

El nivel de sales disueltas en el agua de las piscinas es otro de los elementos que influyen a la calidad del agua, también incurren en el contenido de oxígeno en el agua, pues a mayor salinidad menor oxígeno disuelto (Carchipulla, 2018).

2.6.3 El pH.

En la cría de animales acuáticos, la variación del pH en el agua fluctúa diariamente por varias razones, pero principalmente debido a que el dióxido de carbono producido por los organismos acuáticos cuando respiran tiene una reacción ácida en el agua. En la cría de camarones aumenta igualmente durante el día a medida que el fitoplancton y otras plantas acuáticas eliminan el CO₂ del agua durante la fotosíntesis. Por otra parte, el pH disminuye durante la noche debido a la respiración y la producción de CO₂ por parte de todos los organismos. Estudios científicos demuestran que el rango óptimo de pH del agua en el estanque de camarones debe oscilar entre 7.8 a 8.5. Por ende, resulta fundamental que los productores de camarón estabilicen el pH en este rango. Para obtener la mejor calidad de agua, la fluctuación máxima del pH diurno no debe exceder de 0.5. Es vital

mantener un pH estable en un rango seguro ya que afecta al metabolismo y otros procesos fisiológicos del camarón (Molinos Champion, 2019).

2.6.3 Oxígeno y saturación

El oxígeno disuelto en el agua proviene de la fotosíntesis y del oxígeno de la atmósfera. En los estanques para producción de camarones, la mayor fuente de oxígeno disuelto es la fotosíntesis. Se debe tomar en cuenta que este proceso depende de la cantidad de luz de la cual dispongan los vegetales, por la misma razón la producción de oxígeno disminuye en días nublados y se detiene en su totalidad por las noches (FAO, 2010).

El agua posee un máximo de concentración de oxígeno que puede ser retenido en solución entre sus moléculas dependiendo de la presión atmosférica, temperatura y salinidad. Esta máxima concentración se conoce como “concentración de oxígeno al 100 % de saturación”. En la mayoría de los casos, el oxígeno presente en el agua puede ser menor o mayor a esta capacidad máxima de retención, por lo que es importante conocer la concentración de saturación, para saber cuánto oxígeno más puede retener la masa de agua en un momento determinado y si ya se alcanzado su máximo (Nicovita, 2018).

2.7 Generalidades de enfermedades comunes presentes en el camarón blanco

Lightner (2011), afirma que las enfermedades que afectan a la industria acuícola, en especial a la camaronicultura, han tenido un gran impacto en América desde que el camarón se convirtió en una entidad comercial significativa en la década de los setenta. Enfermedades causadas por virus, bacterias, protozoos y hongos, se han convertido en las principales enfermedades de los camarones cultivados, de las se pueden nombrar al virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV), virus del síndrome de Taura (TSV), virus de la mancha blanca (WSSV), virus de la cabeza amarilla (YHV), e virus de la mionecrosis infecciosa (IMNV).

Muchas de las enfermedades causadas por bacterias, hongos y protozoos se manejan utilizando prácticas de cultivo mejoradas, saneamiento de rutina y el uso de quimioterapéuticos. Sin embargo, las enfermedades causadas por virus han sido mucho más difíciles de manejar y han sido responsables de las epizootias más costosas (Lightner, 2011).

2.8 Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética

La infección por el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética es causada por el agente patógeno denominado virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa, que pertenece a la familia *Parvoviridae* y al género *Penstylidensovirus* (OIE, 2016).

En 2009 se estableció la teoría de que cierta parte del genoma del IHHNV pueda estar “alojado” dentro del genoma del camarón blanco, lo que le confiere cierta resistencia a la manifestación de la enfermedad. Esto puede dar explicación de por qué se encuentran organismos “infectados” con el virus, pero no presentan signos visibles de enfermedad, revelándose que es posible diferenciar un diagnóstico de IHHNV entre las dos formas posibles en que se presenta este virus, forma activa e inactiva (Ramírez, 2018).

2.8.1 Agente patógeno.

El virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa es uno de los virus más pequeños conocidos del camarón peneido. El virión es un icosaedro de 20-22 nm con ausencia de envoltura, de una densidad de 1.40 g ml⁻¹ en CsCl, que posee ADN lineal monocatenario de un tamaño aproximado de 3.9 kb y que tiene una cápsida con cuatro polipéptidos de 74, 47, 39 y 37.5 kD de peso molecular (Bonami, Trumper, Mari, Brehélin, y Lightner, 1990).

Además del virus infeccioso, se ha reportado un virus no infeccioso que está integrado en el genoma del *P. monodon* presente en África,

Australia, Madagascar e India (Rai P., Safeena M. P., Krabsetsve K., La Fauce K., Owens L. y Karunasagar I., 2012).

2.8.2 Especies susceptibles.

Las especies que cumplen los criterios para su inclusión en la lista de susceptibles a ser infectados por el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa según el Capítulo 1.5 del Código Sanitario para los Animales Acuáticos (Código Acuático) son las siguientes (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2009): camarón patiamarillo (*Penaeus californiensis*), langostino jumbo (*Penaeus monodon*), camarón blanco norteño (*Penaeus setiferus*), camarón azul (*Penaeus stylirostris*), y camarón patiblanco (*Penaeus vannamei*) (OIE, 2018).

2.8.3 Fases susceptibles.

El virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa se ha detectado en todos los estadios de vida de *P. vannamei* (huevos, larvas, postlarvas (PL), formas juveniles y adultos). También se ha hallado que los huevos de hembras infectadas por un alto contenido de IHHNV por lo general no llegan a desarrollarse ni a eclosionar. Aquellas larvas nauplias que han sido producidas por reproductores infectados y llegan a eclosionar tienen una alta prevalencia de infección por el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (Motte, E., Yugcha, E., Luzardo, J., Castro, F., Leclercq, G., Rodríguez, J. y Boulo, V., 2003).

2.8.4 Mecanismos de transmisión.

El virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa se puede transmitir por vía horizontal o por vía vertical. El canibalismo o la presencia de aguas o heces contaminadas son vías horizontales de transmisión. Camarones infectados por el IHHNV y que logran sobrevivir, se convierten en portadores asintomáticos permanentes y pueden llegar a transmitir la infección a su descendencia, esta es la forma de transmisión vertical (Cuéllar-Anjel, 2013).

2.8.5 Mortalidad y morbilidad.

Estas condiciones se dan según la especie y el genotipo del IHNV, pudiéndose dar de 3 formas. En *L. stylirostris* la infección produce una enfermedad de curso agudo con mortalidades cercanas al 100 %. Tanto en *L. vannamei* como en ciertas líneas genéticas de *L. stylirostris* y en *L. monodon*, la infección por el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa produce una enfermedad más leve y crónica bajo condiciones especiales, con manifestaciones de síndrome de deformidad y enanismo y muy pocas veces se observan altas mortalidades; sin embargo, hay bajo crecimiento y deformidades marcadas en la cutícula. La forma hace referencia a cuando la mayor parte del genoma del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa está insertado en el genoma de ciertas líneas genéticas de *P. monodon*, sin que haya evidencias de que esta variante viral produzca infecciones (Cuéllar-Anjel, 2013).

2.9 Métodos de detección de virus

La virología diagnóstica tiene que ver con la identificación tiene que ver con la identificación de los virus asociados con síntomas y signos clínicos.

Los procedimientos comúnmente usados son:

- Detección de una respuesta inmune significativa al virus (anticuerpos o mediados por células) mediante ensayos inmunológicos.
- Identificación del agente mediante tinción de muestras o secciones de tejido (microscopía de luz y electrónica).
- Aislamiento e identificación del agente (cultivo celular o huevos fértiles).
- Detección de ácido nucléico viral (TVMDL, 2012).

Para el diagnóstico de camarones infectados con IHHNV, actualmente se usan métodos histológicos para la confirmación de los signos clínicos. Sin embargo, estos métodos son laboriosos, requieren mucho tiempo y no son adecuados para detectar niveles bajos de patógenos que ocurren en la infección viral aguda. Con el tiempo han surgido técnicas más sensibles como métodos de rutina para un diagnóstico molecular, estas basadas en la tecnología del ADN, como lo son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación in situ (Teixeira, M. A., Cruz, J. E. F., Vieira, P. R. N., Branco, I. R. C., Costa, F. H. F., y Rádis-Baptista, G., 2010).

2.9.1 Muestreo.

Se pueden encontrar dos tipos de muestreo, el aleatorio que es usado cuando se requiera muestrear al azar a una población para determinar el estado de salud o la prevalencia de algún patógeno, el número de camarones que será necesario coleccionar va a depender de la prevalencia estimada de dicho patógeno y del nivel estadístico de confianza deseado. Y también está el no aleatorio, el cual es usado en situaciones en las que los camarones presentan claramente signos externos de la enfermedad, así el cálculo de la prevalencia es más fácil (Almanza Abud, Morales Q, Vielka, y Cuéllar-Angel, 2008).

2.9.2 Preparación de las muestras.

La selección del tipo de muestra y el medio para su preservación dependerá del agente a diagnosticar, el tipo de análisis solicitado y los recursos de quien realice el muestreo. Los materiales elegidos deben asegurar el mantenimiento de la integridad de las muestras (SENASICA, 2019).

La estandarización del proceso de toma y envío de muestras, es una práctica que influye directamente en el resultado de los análisis, por lo tanto, se debe considerar que distintas personas pueden realizar diferentes practicas durante la toma de muestras, y una misma persona puede tomar

muestras de distinta manera cuando las circunstancias cambian en cada situación (muestreo de juveniles, reproductores, embarques congelados, etc.), por ello se debe mantener una supervisión constante del personal encargado de la operación (SENASICA, 2019).

2.9.3 Histopatología.

Se extraen camarones (u otros crustáceos decápodos) por el medio que del que se disponga y causándoles el mínimo estrés posible por manipulación. Se fijan los camarones (u otros crustáceos decápodos) al lateral del depósito o estanque o bien se transportan al laboratorio en un recipiente lleno de agua bien oxigenada. Se proporciona la suficiente aireación al recipiente si los camarones (u otros crustáceos decápodos) van a dejarse durante un corto periodo de tiempo antes de la verdadera fijación. Para el estudio de camarones (u otros crustáceos decápodos) presuntamente enfermos, deben escogerse los que estén moribundos, presenten cambios de color, comportamientos anómalos o anomalías de cualquier tipo, excepto cuando se tomen muestras destinadas a evaluar el número de casos de la enfermedad (como la estimación de la prevalencia de la enfermedad), en cuyo caso el método de selección preferible es el muestreo aleatorio (OIE, 2018).

2.9.4 Técnicas moleculares.

Existen métodos directos de detección basados en sondas de ADN específicas del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa en formato de transferencia puntual y de ISH. Se han desarrollado pruebas de reacción en cadena de la polimerasa para el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa y se pueden comprar sin dificultad varios métodos y kits comerciales de detección por reacción en cadena de la polimerasa (OIE, 2012).

2.10 Reacción en cadena de la polimerasa para el Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa.

El diagnóstico molecular del genoma es uno de los principales métodos para la detección de patógenos. La reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) es comúnmente usada por métodos de diagnóstico molecular. En el método PCR, pequeñas cantidades de ADN son amplificadas a cantidades detectables después de 1 a 2 horas de un proceso de amplificación (Qian et al., 2018).

Hay múltiples variedades del IHHNV geográficamente, de las cuales algunas no son detectadas por todos los métodos que existen. Dos series de cebadores, 392F/R y 389F/R, son las más adecuadas para detectar todas las variantes genéticas conocidas del IHHNV. La serie de cebadores 309F/R amplifica solo un segmento genómico de los IHHNV tipos 1 y 2 (las formas infecciosas del IHHNV), pero no de los tipos 3A y 3B, que son no infecciosos y forman parte del genoma de *P. monodon*. La serie de cebadores MG831F / R reacciona solamente con tipos 3A y 3B, que son no infecciosos y forman parte del genoma de *P. monodon*. Por tanto, es muy recomendable confirmar resultados positivos y/o negativos no esperados de PCR para el IHHNV con una segunda serie de cebadores, o bien mediante otro método de diagnóstico (Tang et al., 2011).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación del ensayo

El Trabajo de Titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética perteneciente al departamento de investigación y desarrollo en el área de biología molecular de la empresa Empagran S.A que está ubicado en el km 19.5 vía a la costa en la provincia del Guayas. El proyecto fue realizado durante los meses de noviembre de 2019 a enero de 2020.

Gráfico 2. Ubicación del laboratorio de genética del grupo Empagran S.A



Fuente: Google Maps (Google Maps, 2019).

3.2 Duración del Proyecto

El trabajo tuvo una duración de 6 semanas. Las 3 primeras semanas fueron dedicadas a tomar muestras y parámetros correspondientes a cada categoría a ser evaluada. Las 2 semanas siguientes correspondieron al procesamiento de las muestras y en la última semana se procedió a analizar las muestras e interpretar los resultados.

3.3 Materiales

3.3.1 Equipos.

- Gramera
- Laptop
- Centrífuga

- Vortex
- Termociclador
- Electroforesis
- Transiluminador UV
- Cámara de flujo laminar
- Kit de extracción de ADN
- Kit de amplificación de IHHNV
- Cámara digital

3.3.2 Materiales.

- Primers
- Agarosa
- Etanol 95 %
- Etanol 75 %
- Cloroformo
- Tinte red
- TAE
- DdH₂O
- Pipetas
- Puntas
- Mechero
- Pinzas
- Tubos eppendorf
- Libreta de campo

3.4 Población de estudio

El trabajo se realizó con un total de 100 muestras de *Litopenaeus vannamei* en sus diferentes estadios para su producción comercial, entre postlarvas, animales de maduración y camaronera.

El tamaño estándar de la muestra fue de 0.5 – 1 g en cuanto a post larvas, y se tomaron 2 ejemplares por tanques de maduración y camaronera.

3.5 Protocolo del estudio

El área de trabajo se encuentra en una finca de producción de camarón con piscinas de 20 hectáreas, en la cual se siembran cerca de 80 000 camarones por hectárea y 150 000 libras mensuales de camarón.

Para la recolección de las muestras se usaron colectores específicos para cada etapa de desarrollo. Para los animales de maduración y camaronera se tomaron como muestra los pleópodos, y en cuanto a las postlarvas se realizaron maceraciones con los mismos para después seguir con la extracción de ADN.

Para realizar la prueba de PCR se usó el kit de IHHNV IQ 2000. Para la extracción de ADN se utilizó Lysis Buffer. Se procedió a colocar la muestra en un tubo eppendorf de 1.5 ml, se añadió 500 ul de Lysis Buffer y se molió bien la muestra. Luego de esto, se incubó la muestra preparada a 95 °C por 10 minutos y después se la centrifugó a 12 000 rpm por 10 minutos. Se transfirió 200 ul de la solución transparente superior a un nuevo tubo eppendorf de 1.5 ml con 400 ul de etanol al 95 %. Se procedió a realizar vortex, se centrifugó a 12 000 rpm por 5 minutos y se decantó el etanol para dejar secar el pellet. Una vez seco el pellet, se lo disolvió con 200 ul de ddH₂O. Este procedimiento se realizó con todas las 100 muestras.

En cuanto al protocolo de amplificación, se prepararon los reactivos según el número de muestras, tomando en cuenta el marcador de peso molecular (MPM), un control positivo y un control negativo. Este proceso contó con una primera PCR y una PCR anidada, para ambas PCR se debió hacer los cálculos correspondientes según lo mencionado anteriormente. A cada reacción se le añadió 2 ul del ADN extraído posteriormente. En cuanto

a la mezcla de reactivos para la primera PCR, se usó 7.5 ul del PreMix correspondiente más 0.5 ul de la IQzyme ADN Polimerasa, la mezcla de reactivos alcanzó para 8 ul / reacción como indica el protocolo.

Una vez completada la primera PCR, se prosiguió con la PCR anidada, en donde de igual manera se preparó la mezcla de reactivos usando 14 ul del PreMix correspondiente más 1 ul de la IQzyme ADN Polimerasa, esta mezcla alcanzó para 15 ul / reacción como lo señala el protocolo.

Las condiciones de reacción para la primera PCR incluyeron 1 ciclo de 94 °C durante 2 min; 15 ciclos de 94 °C durante 20 s, 62 °C durante 20 s, 72 °C durante 30 s y un ciclo final de 72 °C durante 30 s y 20 °C durante 30 s. La corrida anidada consistió en 30 ciclos de 94 °C durante 20 s, 62 °C durante 20 s, 72 °C durante 30 s y un ciclo final de 72 °C durante 30 s y 20 °C durante 30 s.

Se realizó la preparación de los geles de agarosa para la lectura de los resultados. Para esto, se mezcló 100 ml de TAE 1X con 2 gr de agarosa seguido de un proceso de ebullición y homogenización. Una vez reposada la mezcla y a temperatura ambiente, se añadió 6 uL de tinte red y se homogenizó nuevamente para poder distribuirla en el molde y esperar que se solidifique.

Con las reacciones ya completas, en un pedazo de film de parafina se pipetearon 2 ul de tinte de carga 6X por cada muestra a analizar. Luego se procedió a añadir 5 ul del marcador molecular donde corresponde y 10 ul de cada reacción respectivamente. Una vez completado esto, las muestras están listas para la electroforesis.

En la caja de gel se colocó el gel de agarosa que se preparó y se añadió TAE 1X hasta cubrir todo el gel. Una vez con el gel en su lugar, se procedió a cargar las muestras con el tinte de carga en cada uno de los pocillos, este proceso se realizó con mucho cuidado para evitar contaminación de las muestras. Ya con todas las muestras cargadas en los pocillos se configuró la caja de gel con un voltaje de 70 electrodos durante 45 min para el proceso de electroforesis.

Cuando terminó la electroforesis, para poder leer los resultados, se puso el gel en el transiluminador UV.

3.6 Variables en estudio

3.6.1 IHHNV.

Para analizar la presencia o ausencia del virus, se hizo uso del kit de detección IQ2000 IHHNV (anidada) para detección y prevención.

3.6.2 pH.

Para la medición del pH se usó un medidor digital de pH, lanzándolo al agua para de esta manera obtener una lectura más acertada al momento de tomadas las muestras.

3.6.3 Temperatura.

Para la medición de la variable temperatura, se hizo uso de un termómetro graduado a celcius al momento de tomadas las muestras.

3.6.4 Salinidad.

La salinidad fue medida con un refractómetro, la lectura se realizó sumergiendo parte del prisma del dispositivo en el agua a ser evaluada al momento de tomadas las muestras.

3.6.5 Oxígeno.

Se realizó la lectura del oxígeno disuelto en el agua con un oxigenómetro al momento de tomadas las muestras.

3.6.6 Saturación.

La saturación fue medida con el mismo oxígenómetro al momento de tomadas las muestras.

3.6.7 Postlarvas.

En esta categoría fueron tomados en cuenta PL 6, PL 7, PL 12 y PL 13.

3.6.8 Maduración.

En maduración se tomaron en cuenta animales en producción, sin producción y algunos en salas de reserva (cuarentena).

3.6.9 Camaronera.

En cuanto a camaronera, fue de donde más se obtuvieron muestras las cuales eran de 30 días y de 45 días después de la cosecha, otras estaban en selección antes de producción y otras estaban en 12 y 15 g respectivamente.

3.7 Diseño experimental

Se aplicó un diseño no experimental, descriptivo y correlacional.

3.8 Análisis de datos

Una vez terminado el proceso de muestreo y análisis, los resultados obtenidos se pasaron a un archivo de Excel con el fin de relacionarlos con las variables establecidas. Este análisis de datos se realizó usando tablas y gráficos.

3.9 Análisis estadístico

La técnica estadística que se usó, sirvió para medir la asociación de variables. En este caso se realizó una prueba de chi cuadrado mediante tablas de contingencia, usando la herramienta INFOSTAT, en donde se consideró un 5 % de significancia.

Para determinar la prevalencia de la patología, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = (\text{casos positivos} \div \text{total de casos estudiados}) \times 100$$

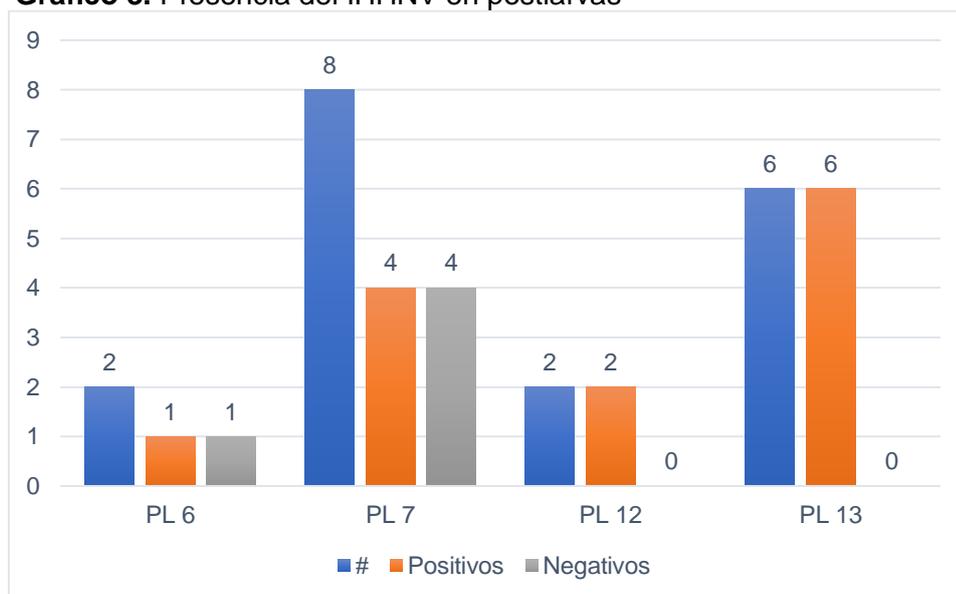
4 RESULTADOS

4.1 Presencia del IHHNV por categoría

4.1.1 Presencia del IHHNV en postlarvas.

En la categoría de postlarvas se contó con 4 estadíos y un total de 18 muestras como se puede observar en el Gráfico 3. En el estadio PL 6, con un total de 2 muestras de las cuales una resultó positiva y la otra negativa. En PL7, con un total de 8 muestras de las cuales 4 resultaron positivas y 4 negativas. PL 12, con 2 muestras, las cuales resultaron positivas. Y por último PL 13, con 6 muestras de las cuales todas resultaron positivas.

Gráfico 3. Presencia del IHHNV en postlarvas



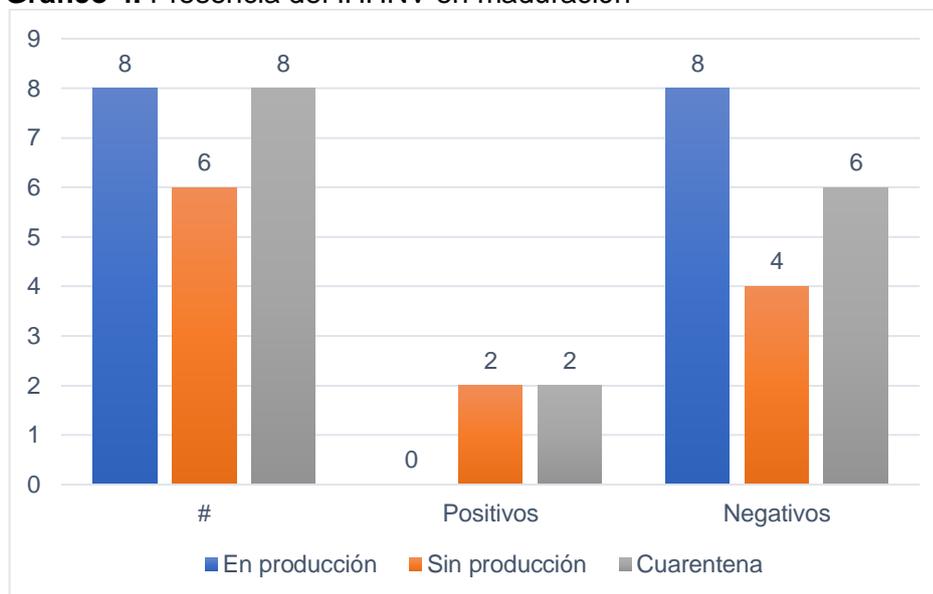
Elaborado por: La Autora

4.1.2 Presencia del IHHNV en maduración.

Con respecto a maduración se contó con 3 fases y se tomaron 22 muestras. En el Gráfico 4 se puede ver que, en la fase de producción las 8 muestras totales resultaron negativas. En la fase sin producción con un total de 6 muestras, 4 de estas fueron negativas y las 2 restantes positivas.

Por último, en la fase de cuarentena con un total de 8 muestras, 6 resultaron negativas y las otras 2 positivas.

Gráfico 4. Presencia del IHHNV en maduración



Elaborado por: La Autora

4.1.3 Presencia del IHHNV en camaronera.

Se obtuvo un total de 60 muestras en camaronera, según el Gráfico 5 las mismas se categorizaron de la siguiente manera: 16 muestras de animales de 12 g aproximadamente, los resultados fueron 15 negativos y un positivo; 15 muestras de animales de 15 g aproximadamente, los cuales todos resultaron negativos; 9 muestras de 30 días después de la cosecha, de las cuales 7 fueron negativas y 2 positivas; 4 muestras de 45 días después de la cosecha, de las cuales 3 resultaron negativas y 1 positiva, por último 16 muestras en selección antes de producción, en donde 15 fueron negativas y 1 positiva.

Gráfico 5. Presencia del IHHNV en camaronera



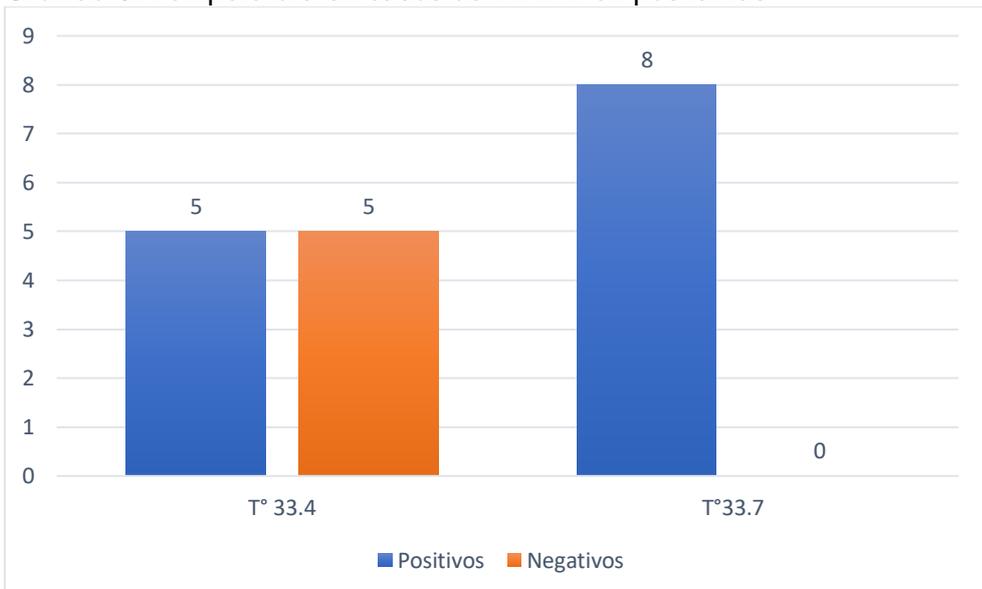
Elaborado por: La Autora

4.2 Temperatura en casos de IHHNV

4.2.1 Temperatura en casos de IHHNV en postlarvas.

En el Gráfico 6, se observa como en postlarvas hubo dos temperaturas diferentes, se puede apreciar que los animales que estuvieron a 33.4 °C, 5 fueron positivos y 5 fueron negativos. En cuanto a los 8 animales que estuvieron a 33.7 °C, todos resultaron positivos.

Gráfico 6. Temperatura en casos de IHHNV en postlarvas

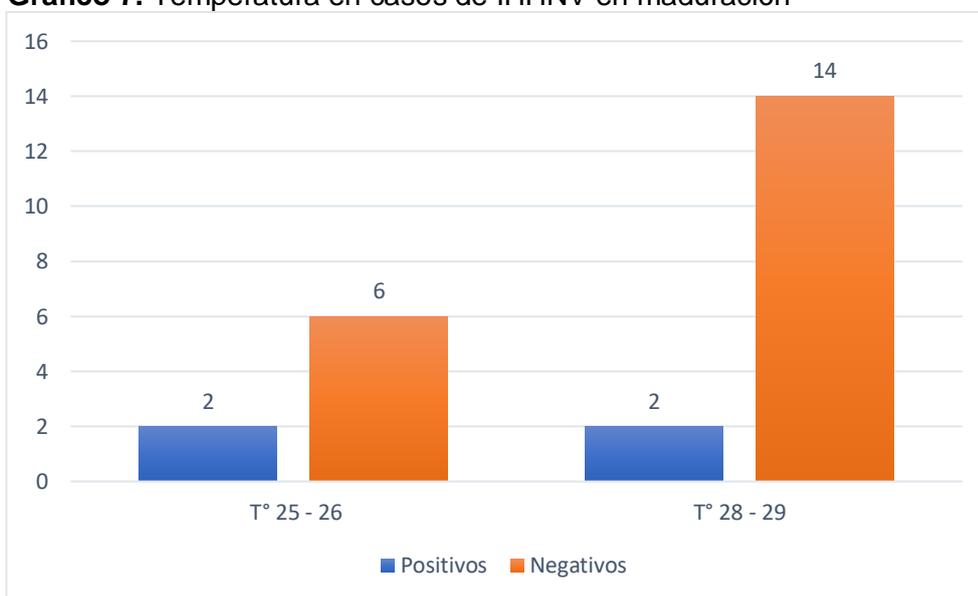


Elaborado por: La Autora

4.2.2 Temperatura en casos de IHHNV en maduración.

Según se puede observar en el Gráfico 7, en maduración se obtuvieron 22 muestras y hubo temperaturas con fluctuaciones mínimas, por lo cual se agruparon en dos: temperaturas entre 25 a 26 °C, hubo 2 muestras positivas y 6 negativas. En temperaturas entre 28 a 29 °C, hubo 2 muestras positivas y 14 negativas.

Gráfico 7. Temperatura en casos de IHHNV en maduración

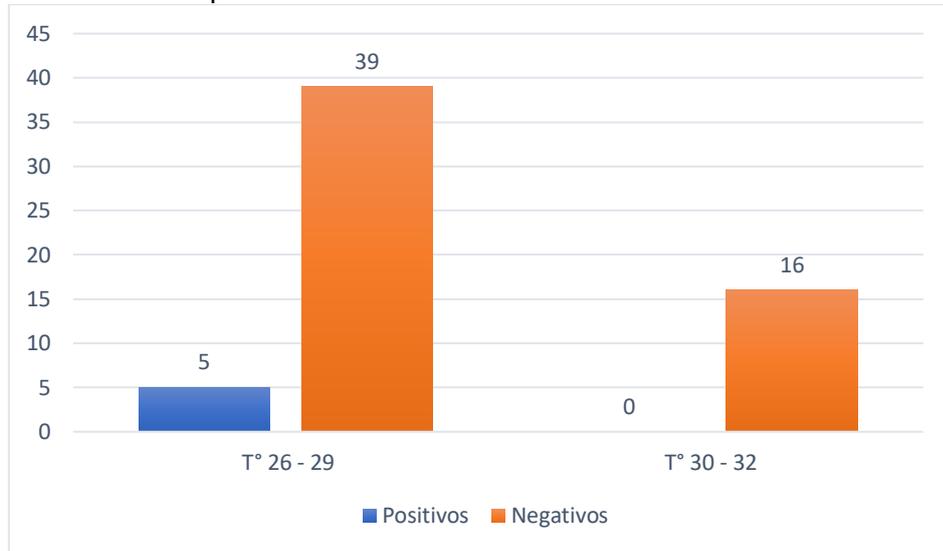


Elaborado por: La Autora

4.2.3 Temperatura en casos de IHHNV en camaronera.

En camaronera de igual forma, se agruparon las temperaturas y hubo un total de 60 muestras. Como se puede interpretar en el Gráfico 8, en temperaturas entre 26 a 29 °C, 39 muestras fueron negativas y 5 positivas. En cuanto a temperaturas entre 30 a 32 °C, la totalidad de 16 muestras resultaron negativas.

Gráfico 8. Temperatura en casos de IHHNV en camaronera



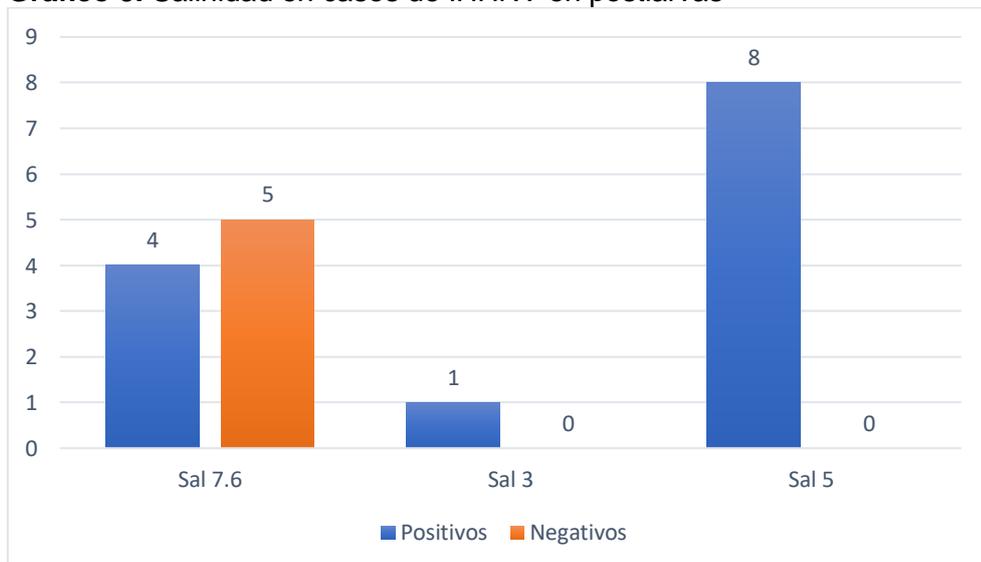
Elaborado por: La Autora

4.3 Salinidad en casos de IHHNV

4.3.1 Salinidad en casos de IHHNV en postlarvas.

Dentro del parámetro salinidad, se hicieron 3 grupos. Observando el Gráfico 9, de las muestras con una salinidad de 7.6 ppm, 4 resultaron positivas y 5 negativas. La única muestra con una salinidad de 3 ppm, salió positiva, y aquellas 8 muestras con una salinidad de 5 ppm resultaron positivas.

Gráfico 9. Salinidad en casos de IHHNV en postlarvas

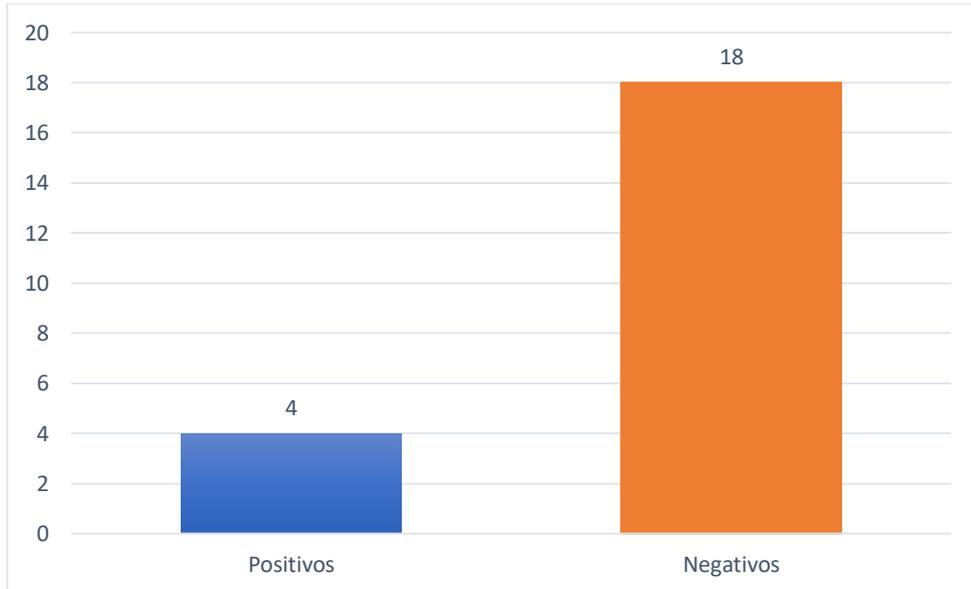


Elaborado por: La Autora

4.3.2 Salinidad en casos de IHHNV en maduración.

Como se puede ver en el Gráfico 10, en maduración todas las muestras estuvieron en una salinidad de 34 ppm, 4 resultaron positivas y 18 negativas.

Gráfico 10. Salinidad en casos de IHHNV en maduración

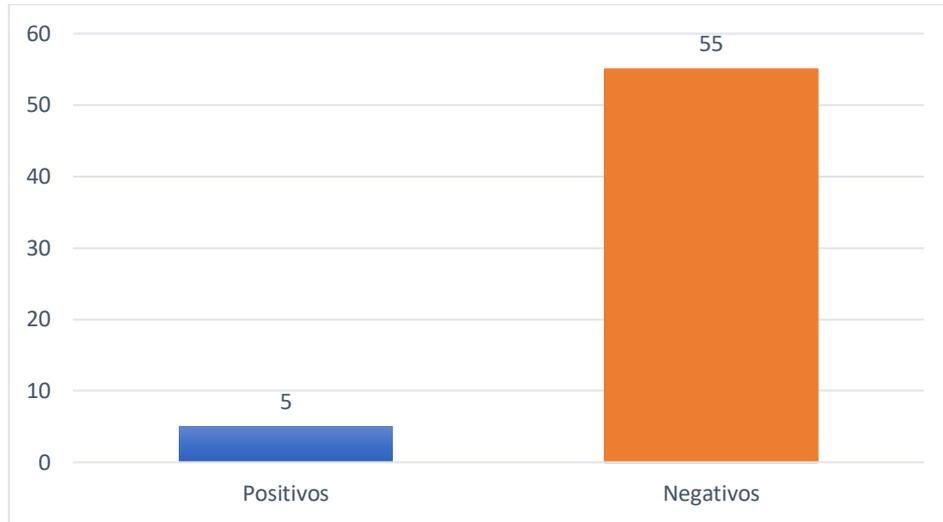


Elaborado por: La Autora

4.3.3 Salinidad en casos de IHHNV en camaronera.

En el Gráfico 11 se observa que la salinidad de todas las muestras tomadas en camaronera fue de 28 ppm, obteniéndose como resultado 5 muestras positivas y 55 negativas.

Gráfico 11. Salinidad en casos de IHNV en camaronera



Elaborado por: La Autora

4.4 pH en casos de IHNV

4.4.1 pH en casos de IHNV en postlarvas.

Como se puede ver en el Gráfico 12, hubo muestras con un pH de 7.6, de las cuales 5 fueron negativas y 5 positivas. En cuanto a las muestras con un pH de 8.03, todas resultaron positivas.

Gráfico 12. pH en casos de IHNV en postlarvas

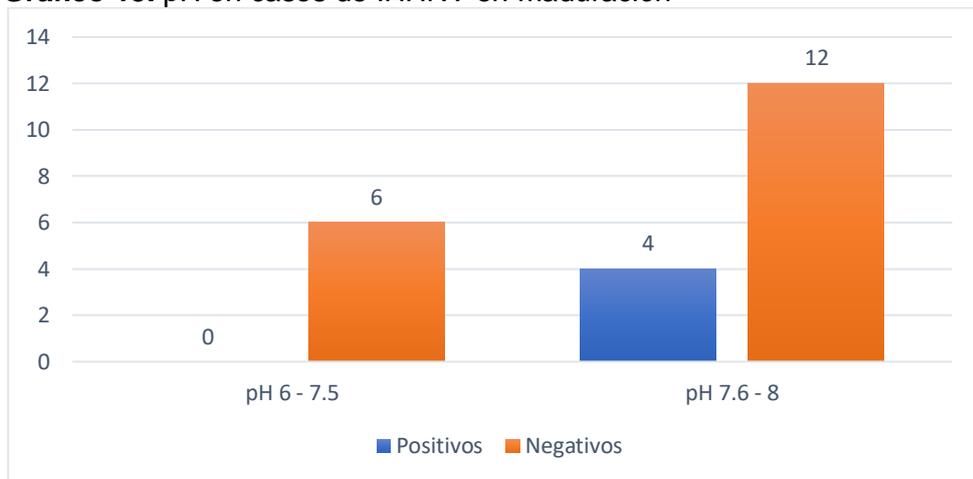


Elaborado por: La Autora

4.4.2 pH en casos de IHHNV en maduración.

Como se puede apreciar en el Gráfico 13, en el rango de pH 6 a 7.5, se obtuvo un total de 6 muestras negativas, mientras que en el rango de un pH de 7.6 a 8, se obtuvo un resultado de 4 muestras positivas y 12 negativas.

Gráfico 13. pH en casos de IHHNV en maduración

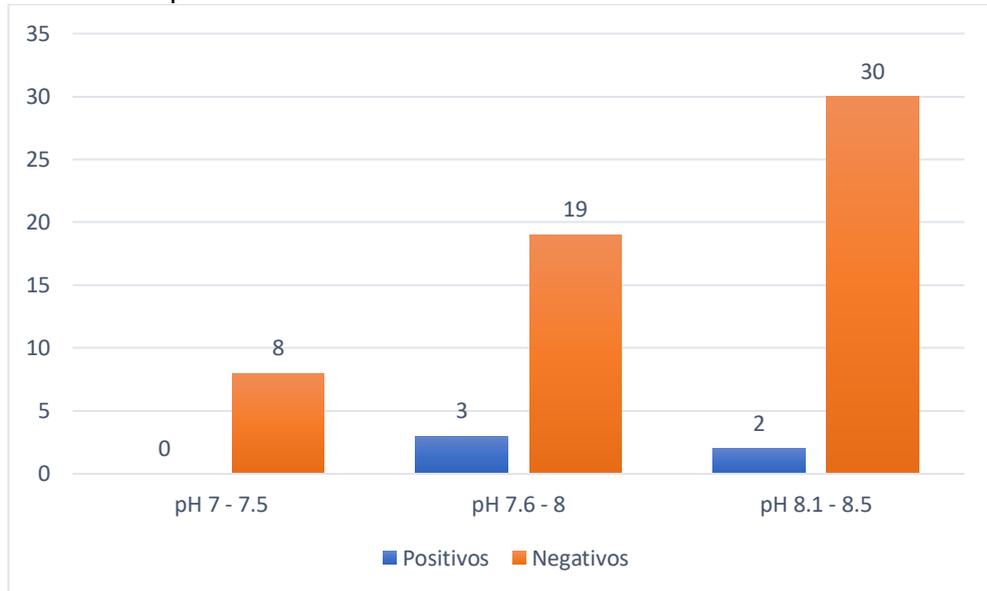


Elaborado por: La Autora

4.4.3 pH en casos de IHHNV en camaronera.

En el Gráfico 14 se puede observar que se hicieron tres agrupaciones: las muestras con un pH entre 7 a 7.5 resultaron todas negativas. De aquellas con un pH entre 7.6 a 8, 3 resultaron positivas mientras que 19 negativas. Por último, las muestras con un pH entre 8.1 a 8.5, se obtuvieron 2 positivas y 30 negativas.

Gráfico 14. pH en casos de IHHNV en camarонера



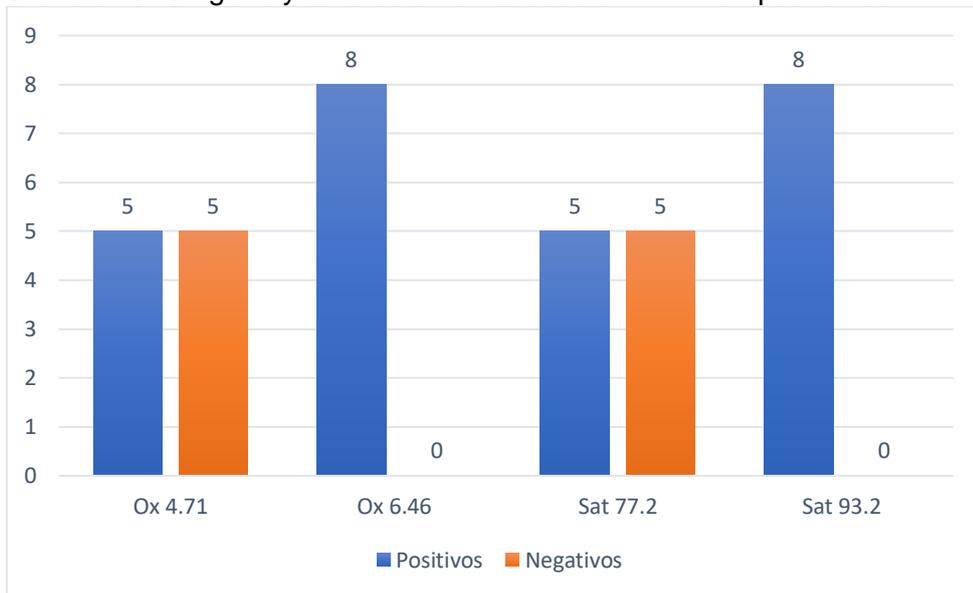
Elaborado por: La Autora

4.5 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV

4.5.1 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en postlarvas.

Como se ve en el Gráfico 15, aquellas muestras con un oxígeno de 4.71 mg/l se obtuvo un resultado de 5 muestras positivas y 5 negativas. Las 8 muestras restantes con un oxígeno de 6.46 mg/l fueron positivas. En cuanto a saturación, hubo 5 muestras positivas y 5 negativas con una saturación del 77.2 %. Todas las 8 muestras con una saturación del 93.2 % resultaron positivas.

Gráfico 15. Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en postlarvas

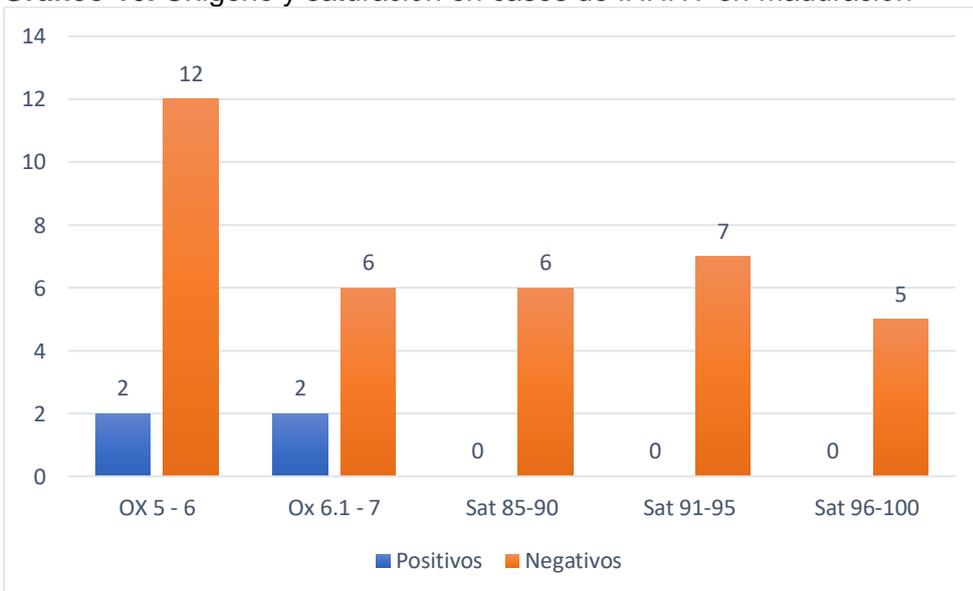


Elaborado por: La Autora

4.5.2 Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en maduración

En el Gráfico 16 se observa que las muestras con un oxígeno entre 5 a 6 mg/l, 2 fueron positivas y 12 negativas. De aquellas con un oxígeno entre 6.1 a 7 mg/l, se obtuvo 2 muestras positivas y 6 negativas.

Gráfico 16. Oxígeno y saturación en casos de IHHNV en maduración

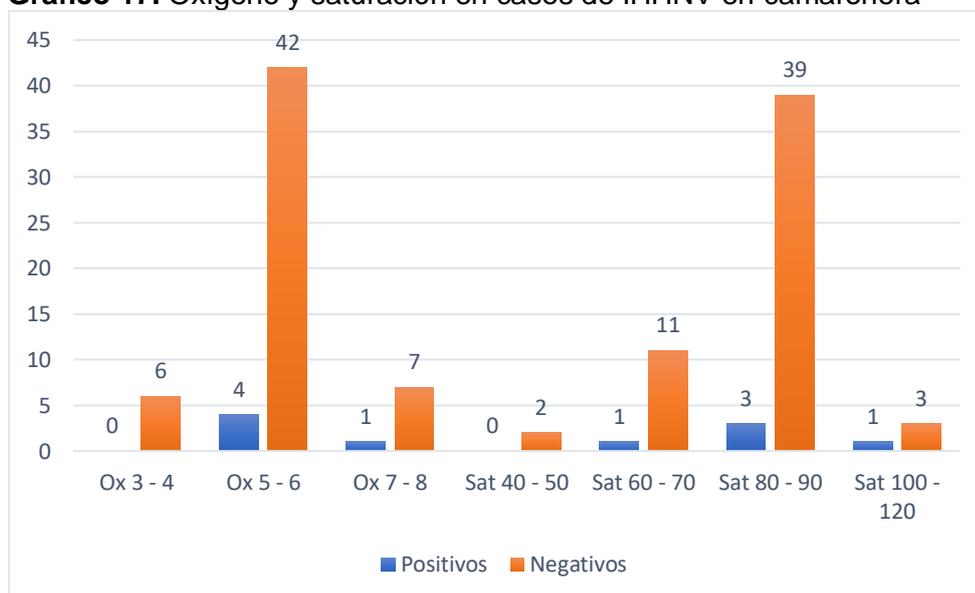


Elaborado por: La Autora

4.5.3 Oxígeno y saturación en casos de IHNV en camaronera.

En camaronera, el oxígeno se dividió en tres grupos, el Gráfico 17 demuestra que de las muestras con un oxígeno de 3 a 4 mg/l, todas las 6 muestras salieron negativas. Aquellas con un oxígeno de 5 a 6 mg/l, 4 fueron positivas y 42 negativas. Con un oxígeno de 7 a 8 mg/l, 7 muestras salieron negativas y 1 positiva. Con un oxígeno de 7 a 8 mg/l, 7 muestras salieron negativas y 1 positiva. Con un oxígeno de 7 a 8 mg/l, 7 muestras salieron negativas y 1 positiva. Con un oxígeno de 7 a 8 mg/l, 7 muestras salieron negativas y 1 positiva.

Gráfico 17. Oxígeno y saturación en casos de IHNV en camaronera



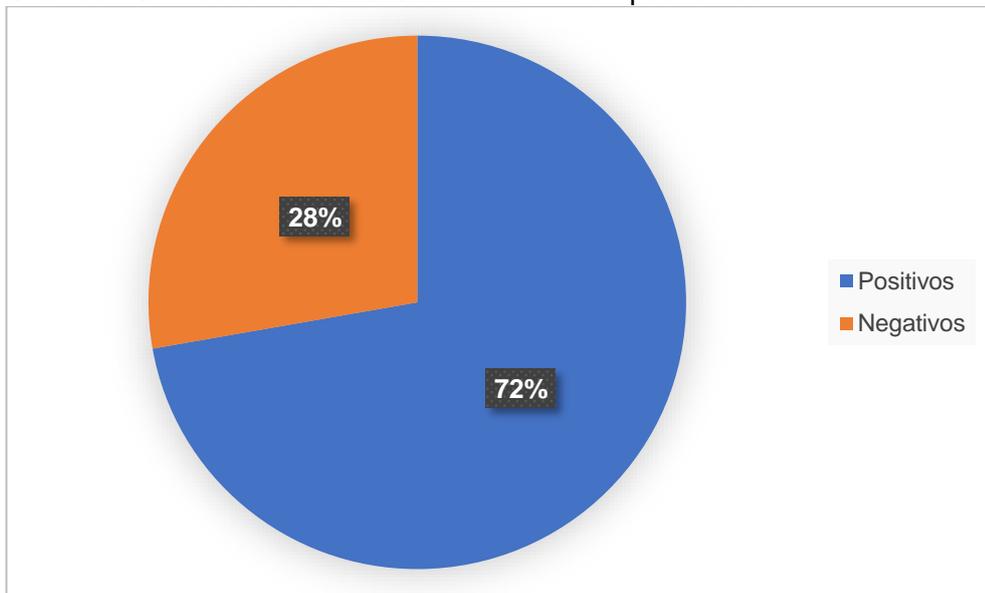
Elaborado por: La Autora

4.6 Prevalencia del IHNV

4.6.1 Frecuencia del IHNV en postlarvas.

Ya con todos los resultados, como se puede observar en el Gráfico 18, en postlarvas hubo una frecuencia del virus de un 72 %, con un 28 % de casos negativos.

Gráfico 18. Frecuencia en casos de IHHNV en postlarvas

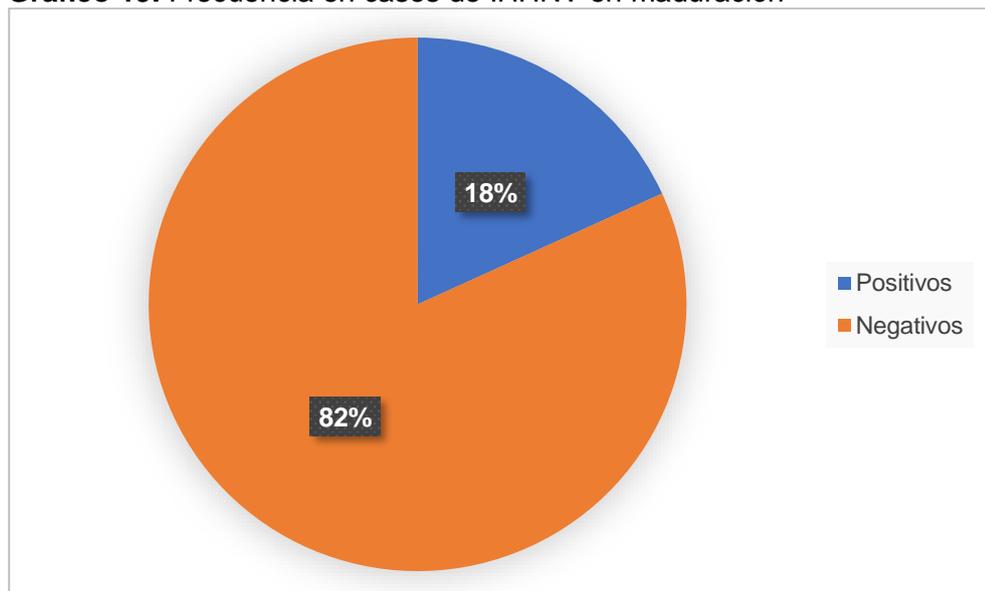


Elaborado por: La Autora

4.6.2 Frecuencia del IHHNV en maduración.

Como se puede observar en el Gráfico 19, la frecuencia en la categoría de maduración fue de un 82 %, con un 18 % de casos negativos.

Gráfico 19. Frecuencia en casos de IHHNV en maduración

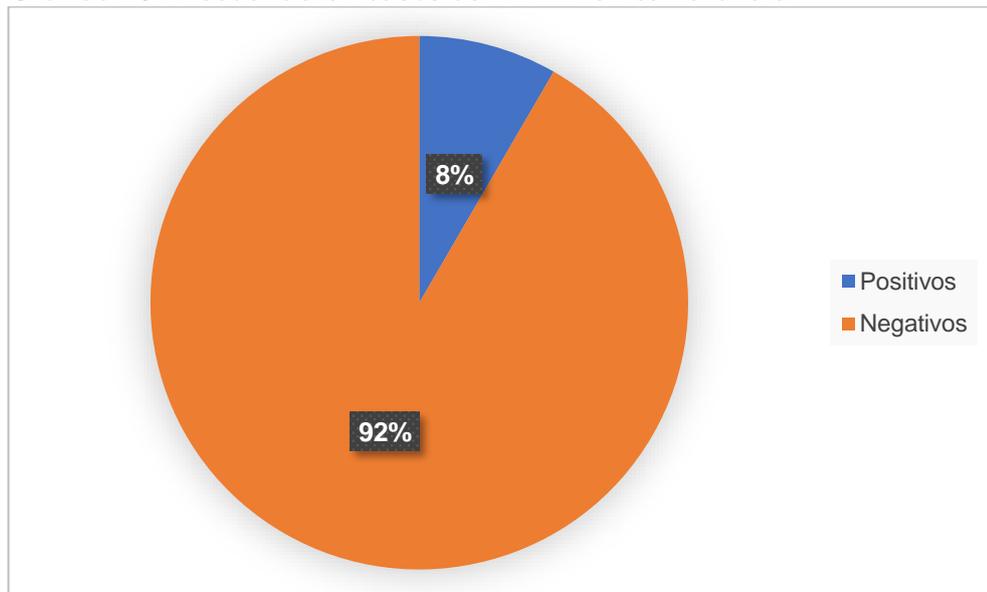


Elaborado por: La Autora

4.6.3 Frecuencia del IHHNV en camaronera.

En el Gráfico 20 se aprecia como en camaronera hubo una frecuencia del virus muy baja con un 92 % de casos negativos, y solo un 8 % de casos positivos.

Gráfico 20. Frecuencia en casos de IHHNV en camaronera

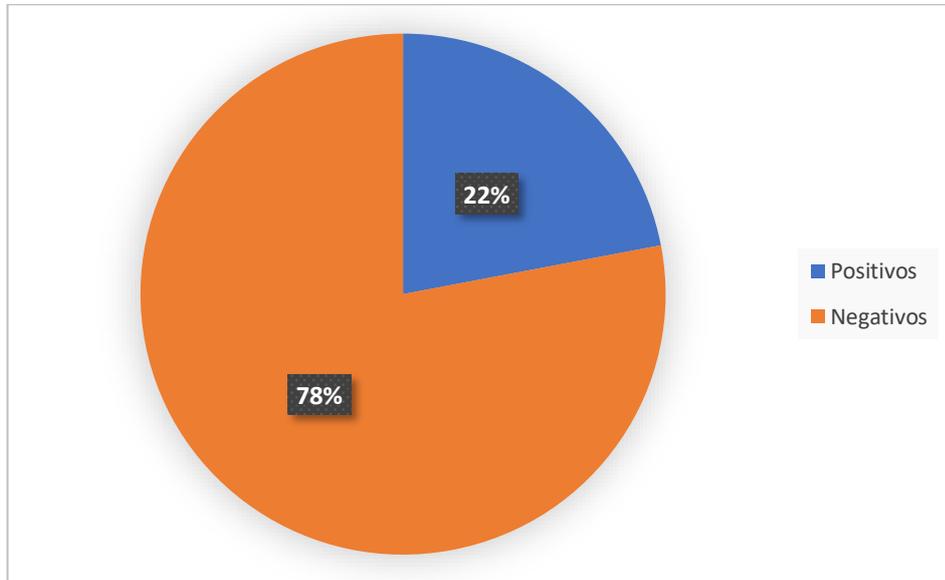


Elaborado por: La Autora

4.6.4 Prevalencia del IHHNV en el total de casos.

Una vez analizado las 100 muestras, con los resultados obtenidos y según el Gráfico 21, un 78 % representa los casos negativos ante el IHHNV y el 22 % corresponde a la prevalencia de la patología.

Gráfico 21. Prevalencia del IHHNV en el total de casos



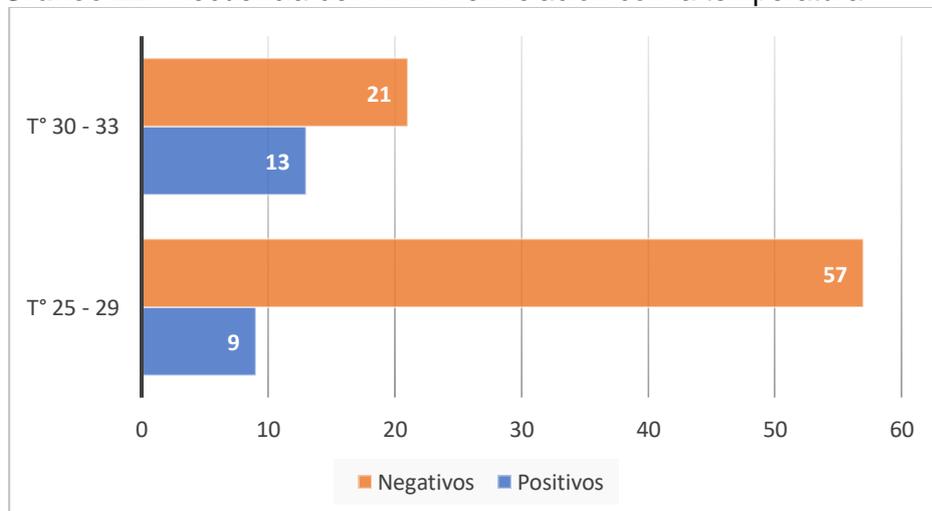
Elaborado por: La Autora

4.7 Influencia de las variables en la presencia del IHHNV

4.7.1 Frecuencia del IHHNV en relación con la temperatura.

En cuanto a temperatura se pudo observar en el Gráfico 22 que la prevalencia del virus se vio más en aquellas muestras con una temperatura mayor a los 30 °C, pero de igual manera se toma en cuenta que la mayor cantidad de muestras se encontró en el rango de 25 a 29 °C en donde la mayoría de estas resultaron negativas.

Gráfico 22. Frecuencia del IHHNV en relación con la temperatura



Elaborado por: La Autora

Haciendo el análisis estadístico, como se puede observar en la Tabla 1, según la prueba de chi cuadrado el p-valor fue < 0.0001 , es decir que fue menor al nivel de significancia alfa 0.05. Como resultado la hipótesis nula se rechaza, es decir, que la temperatura si está asociada con la presencia del IHNV.

Tabla 1. Resultados de Chi cuadrado del IHNV en relación con la temperatura

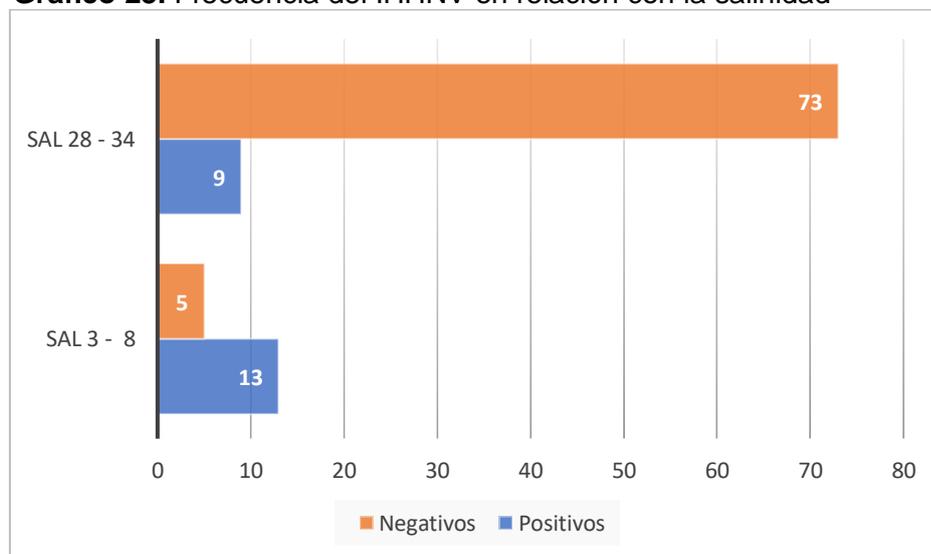
Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado	24.75	1	<0.0001
Pearson			
Chi Cuadrado	24.36	1	<0.0001
MV-G2			

Elaborado por: La Autora

4.7.2 Frecuencia del IHNV en relación con la salinidad.

Relacionando la salinidad con el virus, se puede observar en el Gráfico 23 que hubo más prevalencia de este en las muestras con una salinidad entre 3 a 8 ppm. La mayor cantidad de muestras se encontró en el rango de salinidad de 28 a 34 ppm, las cuales resultaron negativas en su mayoría.

Gráfico 23. Frecuencia del IHNV en relación con la salinidad



Elaborado por: La Autora

Luego de realizar la prueba de chi cuadrado, como se observa en la Tabla 2 el p-valor fue < 0.0001 , es decir que fue menor a alfa 0.05, por ende, la hipótesis nula se rechaza, y se puede decir que la salinidad está asociada con la presencia del IHHNV.

Tabla 2. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con la salinidad

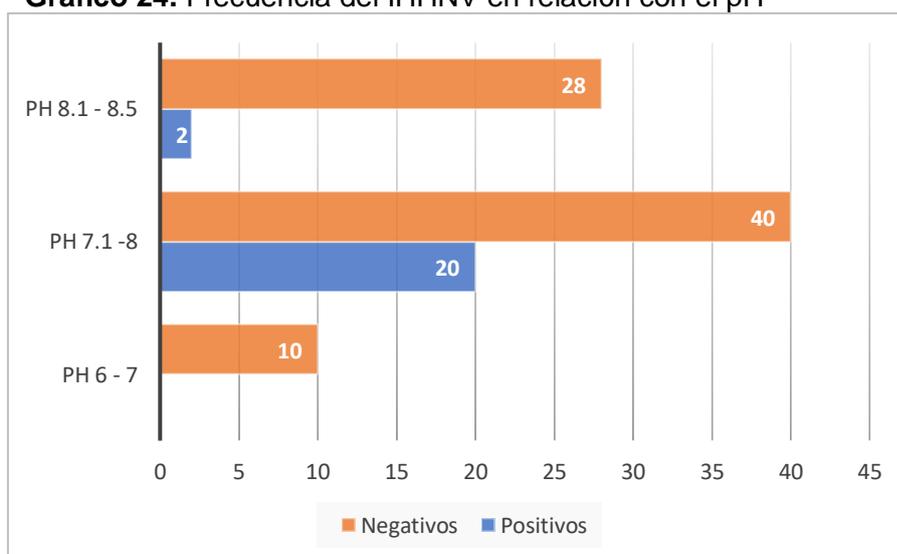
Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	32.27	1	<0.0001
Chi Cuadrado MV-G2	27.37	1	<0.0001

Elaborado por: La Autora

4.7.3 Frecuencia del IHHNV en relación con el pH.

Como se puede observar en el Gráfico 24, el rango de pH entre 7.1 a 8 es donde más resultados positivos hubo, aunque de igual manera los resultados negativos superan los positivos en todos los rangos.

Gráfico 24. Frecuencia del IHHNV en relación con el pH



Elaborado por: La Autora

En el análisis estadístico, como se puede observar en la Tabla 3 según la prueba de chi cuadrado el p-valor fue < 0.0033 , es decir, menor al nivel de significancia alfa 0.05. En este caso la hipótesis nula se rechaza y por lo tanto el pH si está asociado con la presencia del IHHNV.

Tabla 3. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con el pH

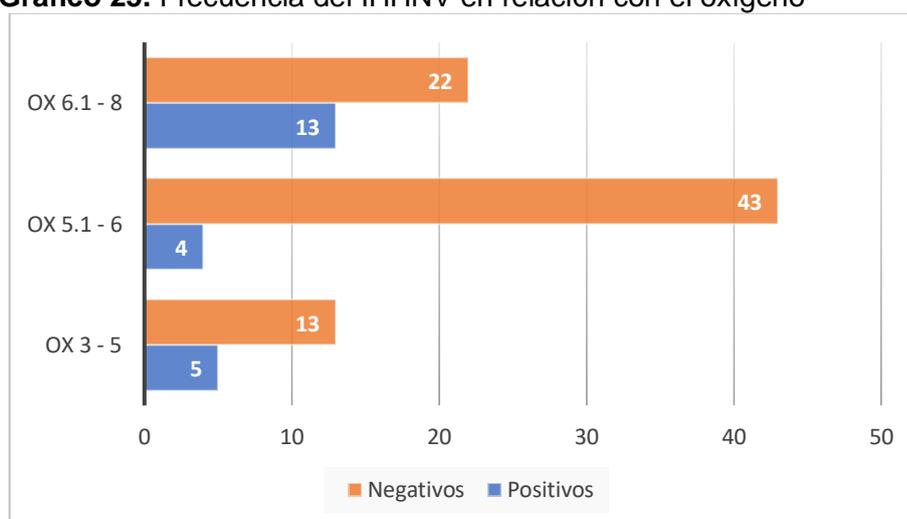
Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado	11.42	2	<0.0033
Pearson			
Chi Cuadrado	14.3	2	<0.0008
MV-G2			

Elaborado por: La Autora

4.7.4 Frecuencia del IHHNV en relación con el oxígeno.

En el Gráfico 25 se puede observar que el rango de oxígeno entre 6.1 a 8 mg/l tuvo el mayor número de positivos entre los 3 rangos de oxígeno, como se puede ver en el gráfico. De igual forma se puede observar que así mismo hay más predisposición de negativos en todos los rangos.

Gráfico 25. Frecuencia del IHHNV en relación con el oxígeno



Elaborado: La Autora

Haciendo la prueba de chi cuadrado, como se observa en la Tabla 4 el p-valor fue <0.0067 , fue menor al nivel de significancia y por ende el oxígeno sí está asociado con la presencia del virus.

Tabla 4. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con el oxígeno

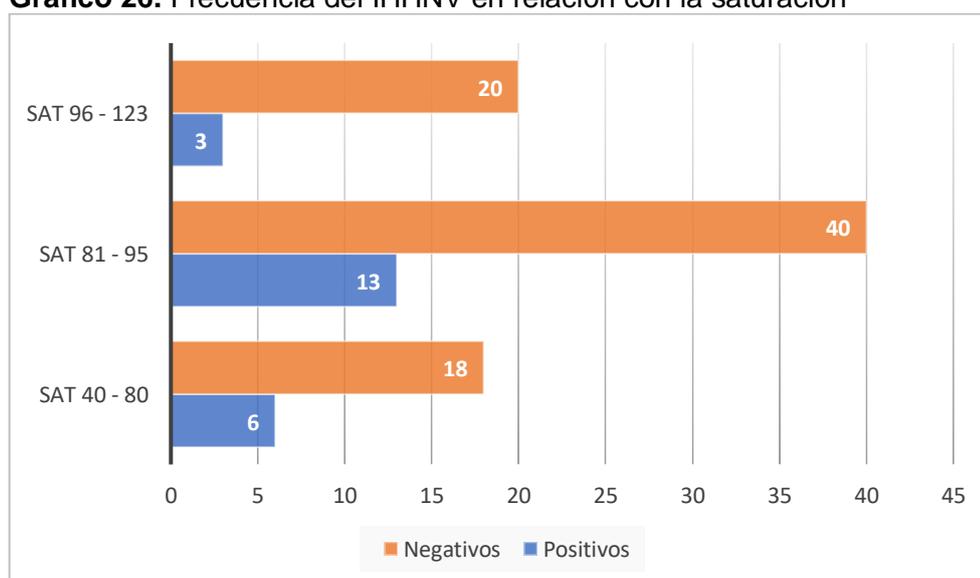
Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	10.01	2	<0.0067
Chi Cuadrado MV-G2	10.57	2	<0.0051

Elaborado por: La Autora

4.7.5 Frecuencia del IHHNV en relación con la saturación.

Como se puede observar en el Gráfico 26 entre los 3 rangos de saturación, se encontró que el rango entre 81 a 95 % de saturación posee la mayor cantidad tanto de positivos como de negativos de entre todos los rangos.

Gráfico 26. Frecuencia del IHHNV en relación con la saturación



Elaborado por: La Autora

Mientras que en la Tabla 5 se puede observar que según la prueba de chi cuadrado el p-valor fue <0.497 , es decir que fue mayor al nivel de significancia 0.05 por ende, se acepta la hipótesis nula la cual dice que la saturación no está asociada con la presencia del IHHNV.

Tabla 5. Resultados de Chi cuadrado del IHHNV en relación con la temperatura

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	1.4	2	<0.497
Chi Cuadrado MV-G2	1.53	2	<0.4663

Elaborado por: La Autora

5 DISCUSIÓN

El sector acuícola en los últimos 50 años se ha visto afectado por pandemias que han sido producidas en su mayoría por agentes virales, lo cual ha generado que los productores de camarón implementen programas de mejoramiento genético y desarrollen técnicas moleculares para una detección rápida de estos patógenos (Marcillo, 2010).

En el presente trabajo se demostró que existe una correlación directamente proporcional entre temperatura, oxígeno y la frecuencia de aparición del IHHNV, con la salinidad esta correlación fue inversamente proporcional mientras que, con parámetros como saturación, no existió asociación alguna con la presencia del virus. En cuanto a pH el rango intermedio fue el que más positivos obtuvo. A diferencia de autores como Sonnenholzner et al. (2002) sugieren que el virus puede infectar a los camarones indiferente a la temperatura en la que se encuentren y que el aumento en la supervivencia estaría relacionado por el incremento de la respuesta del camarón al virus.

Se conoce que tanto crustáceos como insectos pueden llevar uno o más patógenos virales de manera persistente a niveles bajos, sin presentar síntomas de enfermedad y pudiendo transmitirlos a sus descendientes, y aunque aun no se sabe como lo hacen, este proceso se denomina alojamiento viral (Flegel, 2009).

Se ha demostrado que *Penaeus monodon* puede llevar inserto en su genoma, ciertos fragmentos del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa sin que estos presenten signos de la enfermedad (Chayaburakul et al., 2005; Oie, 2016). En el presente trabajo se tomó como objeto de estudio al *Penaeus vannamei*, especie de la cual, según un estudio en Brasil, se demostró que también se pueden encontrar fragmentos de

IHHNV en el genoma de *Litopenaeus vannamei* (Teixeira et al., 2010). Los autores mencionan que el virus al que denominan inactivo es aquel que se encuentra presente en camarones sin visibles signos de enfermedad como talla pequeña, rostrum desviado, o malformaciones cuticulares (RoblesSikisaka et al., 2010; Silva et al., 2014). Mientras que la forma denominada activa, es la encontrada en camarones que si presentan visibles signos de enfermedad.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Según los resultados obtenidos de los análisis realizados en el presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

- El virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética, estuvo presente en solo un 22 % de los casos totales y el 78 % restante fueron negativos al virus, es decir, que su prevalencia fue baja.
- Se evaluaron las variables y se puede decir que no hubo fluctuaciones significativas en los parámetros medidos.
- Haciendo la correlación de cada parámetro medido con la presencia del virus, la temperatura, salinidad, pH y oxígeno estuvieron asociados con la presencia del virus. La saturación fue la única variable que no se asoció con la presencia del virus.

6.2 Recomendaciones

Para mejores resultados en trabajos de investigación, se realizan las siguientes recomendaciones:

- Usar una calculadora de muestras para que así el margen de error sea el mínimo posible.
- Mantener un buen control de los parámetros en las diferentes áreas de producción para los distintos estadíos.
- Hacer uso de métodos de detección de enfermedades más sensibles y precisos, como el PCR anidada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almanza Abud, M. J., Morales Q, Vielka, & Cuéllar-Angel, J. (2008). *Guía técnica: Patología e inmunología de camarones penaidos*. Panamá: Programa CYTED Red II-D Vannamei.
- Alvarado, P. (2020, enero 8). *El camarón alcanzó cifra récord en el 2019 en el Ecuador*. El Comercio. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/camaron-record-ecuador-exportacion-economia.html>
- Bonami, J.-R., Trumper, B., Mari, J., Brehélin, M., & Lightner, D. (1990). Purification and characterization of the infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus of penaeid shrimp. *The Journal of general virology*, 71 (Pt 11), 2657-2664. Recuperado de <https://doi.org/10.1099/0022-1317-71-11-2657>
- Burgos, G. P., Molestina, M. S., y Almeida, P. A. (2016). Cambio de la matriz productiva en el Ecuador (Caso de estudio: Guayaquil). *Observatorio de la economía Latinoamericana*, (216). Recuperado de <http://www.eumed.net/rev/japon/26/cooperacion.html>
- Carchipulla Leal, V. M. (2018). Importancia del oxígeno disuelto para mejorar la calidad de agua en estanques de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Machala: Universidad Técnica de Machala. Recuperado de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/12905/1/DE00006_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf?Fbclid=iwar2darfzt_qjqyshoikl9jjcaucc hpseyog-pbs8vlsqsb5ujbfd7olqkc8

- Chayaburakul, K. et al. Different responses to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in *Penaeus monodon* and *P. vannamei*. USA: Dis Aquat Org. 67: 192-200 p. 2005.
- Cuéllar-Anjel, J. (2013). *Necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHN)*. 4.
- Dávila Caguana, D. S., Uquillas Lago, A. B., y Zorrilla Gamboa, L. G. (2013). "Reestructuración de cultivo semi-intensivo a intensivo de la camaronera Cabrera Dávila a fin de incrementar su rentabilidad en el sector de Puerto Grande, Machala provincia de El Oro." Universidad de Guayaquil. Recuperado de [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/13507/1/TESIS DE GRADO.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/13507/1/TESIS_DE_GRADO.pdf)
- El Telégrafo. (2017). *Los camarones de pesca artesanal dominan mercado*. Recuperado de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/88/8/los-camarones-de-pesca-artesanal-dominan-mercado>
- FAO. (2019). Programa de información de especies acuáticas *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Recuperado de http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es
- FAO. (2010). Manual de piscicultura. Métodos sencillos para la cuicultura. Recuperado de http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709s/x6709s02.htm#top
- Flegel, T.W. (2009). Hypothesis for heritable, anti-viral immunity in crustaceans and insects. *Biol Direct* 4, 32. Recuperado de <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-32>

IDECAP. (2017). Acuicultura y procesamiento pesquero. Recuperado de [https://www.idecap.org/sistema/pages/datos/src/ACUICULTURA Y PROCESAMIENTO PESQUERO - 6_MD_05022018153648.pdf](https://www.idecap.org/sistema/pages/datos/src/ACUICULTURA_Y_PROCESAMIENTO_PESQUERO_-_6_MD_05022018153648.pdf)

Jara Valle, P. G. (2015). "Calidad de agua de mar del estero Huaylá y sus efectos en el crecimiento y supervivencia de larvas *Litopenaeus vannamei*". Machala: Universidad Técnica de Machala. Recuperado de <http://repositorio.etmachala.edu.ec/handle/48000/2839>

Leal Rubio, B. G. (2010). Caracterización del gen de la lactato deshidrogenasa del camarón blanco *litopenaeus vannamei*. CIAD. Recuperado de <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/343>

Lightner, D. V. (2011). Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106(1), 110-130. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.09.012>

Marcillo Del Castillo, R. A. (2010). Estudio de la presencia de IHHNV en post-larvas de *Penaeus vannamei* bajo dos sistemas de producción con estatus identificado de sus progenitoras. Recuperado de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13732/1/D-43240.pdf>

McPadden, C. (1985). *Breve estudio de la Industria Camaronera en el Ecuador*. Recuperado de <https://www.oceandocs.org/handle/1834/3221>

Meyer, D. (2004). Introducción Acuicultura, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras 2004. Recuperado de <https://www.lamjol.info/index.php/CEIBA/article/view/969>

- Molinos Champion. (2019). ¿Qué importancia tiene el pH en la cría de camarones?. Recuperado de <https://www.molinoschampion.com/ph-cria-de-camarones/>
- Montoya, J. (2018). Proceso de producción del camarón en Ecuador. Recuperado el 17 de septiembre de 2019, de Clúster Camarón website: <http://camaron.ebizaro.com/proceso-de-produccion-del-camaron-en-ecuador/>
- Morán Angulo, V. C. (2017). Efecto de probióticos en el crecimiento de larvas del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en cautiverio. Universidad de Guayaquil.
- Motte, E., Yugcha, E., Luzardo, J., Castro, F., Leclercq, G., Rodríguez, J., ... Boulo, V. (2003). Prevention of IHHNV vertical transmission in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 219(1), 57-70. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00631-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00631-2)
- Moullac, L., Groumellec, G., Ansquer, M., Froissard, D., Levy, S., and Aquacop P. (1997). Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology*, 7: 227-234.
- Nicovita. (2018). Oxígeno disuelto y porcentaje de saturación. Su importancia para el manejo eficiente de la aireación. Recuperado de https://www.nicovita.com.pe/Documentos%20compartidos/Boletin_Nicovita_Oxigeno_Disuelto_y_Porcentaje_de_Saturacion.pdf
- Nunan, L. M., Poulos, B. T., & Lightner, D. V. (2000). Use of Polymerase Chain Reaction for the Detection of Infectious Hypodermal and

Hematopoietic Necrosis Virus in Penaeid Shrimp. *Marine Biotechnology*, 2(4), 319-328. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s101260000003>

Organización de las Naciones Unidas. (2019). Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2019. Recuperado de <http://www.acnur.org/5c93e4c34.pdf>

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2009). *Código sanitario para los animales acuáticos 2009*. París: Organización Mundial de Sanidad Animal.

OIE. (2016). Código Sanitario para Animales Acuáticos. ANIMAL, O. M. D. S.: 28 p.

Peña Casado, L. A. (2017). El sector camaronero del Ecuador y las políticas sectoriales 2007-2016. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE ECONOMÍA. Recuperado de [http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13763/Disertación Luis Peña .pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/13763/Disertación%20Luis%20Peña.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Peña-Navarro, N., & Varela-Mejías, A. (2016). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de biología marina y oceanografía*, 51(3), 553-564. Recuperado de <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300007>

Pérez - Farfante, I., & Kensley, B. (1997). Keys and diagnoses for the families and genera. Penaeoid and sengeroid shrimps and prawns of the world. *Mémoires du museum national d histoire naturelle*, 233.

Qian, C., Wang, R., Wu, C., Wang, L., Ye, Z., Wu, J., & Ji, F. (2018). A fast and visual method for duplex shrimp pathogens detection with high specificity using rapid PCR and molecular beacon. *Analytica Chimica Acta*, 1040, 105-111. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.064>

Rai P., Safeena M. P., Krabsetsve K., La Fauce K., Owens L., Karunasagar I., 2012. Genomics, molecular epidemiology and diagnostics of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus. *Indian J. Virol*, 23(2), 203–214

Ramírez Almaraz, C. (2018, octubre 8). Determinación de dos formas del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa en camarón blanco *litopenaeus vannamei* en Guasave, Sinaloa. Recuperado el 18 de octubre de 2019, de <http://eprints.uanl.mx/13825/>

Rivera Rodríguez. M. C. (1998). Efecto de la salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia en postlarvas y juveniles de camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone, 1931), bajo condiciones de laboratorio. Universidad de Colima. Recuperado de http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/pdf/maria_cruz_rivera_rodriguez.pdf

Robles-Sikisaka, R. et al. (2010). Genetic Signature of Rapid IHNV (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus) Expansion in Wild *Penaeus* Shrimp Populations. San Diego, CA, US: PLoS ONE. 5: 11799 p.

SENASICA. (2019, julio 8). Manual de obtención y envío de muestras para el diagnóstico de enfermedades en crustáceos. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/279213/MANUAL_T

OMA_Y_ENV_O_DE_MUESTRAS_DE_ENFERMEDADES_EN_CRU
ST_CEOS.pdf

- Silva, D. C. D. et al. (2014). Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus from Brazil: Sequencing, comparative analysis and PCR detection. *Virus Research*, v. 189, p. 136-146.
- Sonnenholzner, S., Rodríguez, J., Pérez, F., Betancourt, I., Echeverría, F. y Calderón, J. (2002). Supervivencia y respuesta inmune de camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* desafiados por vía oral a WSSV a diferentes temperaturas. *Boletín. El Mundo Acuícola*. 8(1): 50-56.
- Tang, K., Poulos, B., Wang, J., Redman, R., Shih, H., & Lightner, D. (2011). Geographic variations among infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) isolates and characteristics of their infection. *Diseases of Aquatic Organisms*, 53, 91-99. Recuperado de <https://doi.org/10.3354/dao053091>
- Teixeira, M. A., Cruz, J. E. F., Vieira, P. R. N., Branco, I. R. C., Costa, F. H. F., & Rádis-Baptista, G. (2010). Differential diagnosis of active hypodermal and hematopoietic necrosis virus based on gene choice and reverse transcription coupled with PCR. *Genetics and Molecular Research*, 9(4), 2025–2031. Recuperado de <https://doi.org/10.4238/vol9-4gmr917>
- Texas A&M Veterinary Medical Diagnostic Laboratory (TVMDL). (2012). *Virology Techniques*. Recuperado de https://agriflife.org/vetmed/files/2012/10/LS_5_4_sample_lesson.pdf
- Ulloa Tello, R. F. (2015). Efecto de dos porcentajes de recirculación de agua en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Machala:*

Universidad Técnica de Machala. Recuperado de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2009>

Vistazo. (2019, marzo 29). Camarón: Líder de las exportaciones no petroleras. Recuperado 17 de septiembre de 2019, de Vistazo website: <https://www.vistazo.com/seccion/enfoque/camaron-lider-de-las-exportaciones-no-petroleras>

World Organisation for Animal Health. (2012). Manual Acuático de la OIE. Necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa. Recuperado de https://www.oie.int/esp/normes/fmanual/2.2.02_IHHN.pdf

World Organisation for Animal Health. (2018). Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Recuperado de https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/chapitre_ihnh.pdf

World Veterinary Association. (2016, marzo 9). Policy on the Role of the Veterinarian in Animal Welfare. Recuperado 17 de octubre de 2019, de http://www.worldvet.org/uploads/docs/wva_position_on_aw_2016.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Parámetros y presencia del virus en postlarvas

Categoría	Muestra	Estadio	Temperatura	Salinidad	pH	Oxígeno	Saturación	IHHNV
POSTLARVAS	1	PL 6	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	0
POSTLARVAS	2	PL 6	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	1
POSTLARVAS	3	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	1
POSTLARVAS	4	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	0
POSTLARVAS	5	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	0
POSTLARVAS	6	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	1
POSTLARVAS	7	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	0
POSTLARVAS	8	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	0
POSTLARVAS	9	PL 7	33.4	7.6	7.6	4.71	77.2	1
POSTLARVAS	10	PL 7	33.4	3	7.6	4.71	77.2	1
POSTLARVAS	11	PL 12	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	12	PL 12	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	13	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	14	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	15	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	16	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	17	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1
POSTLARVAS	18	PL 13	33.7	5	8.03	6.46	93.2	1

Elaborado por: La Autora

Anexo 2. Parámetros y presencia del virus en maduración

Categoría	Muestra	Estadio	Temperatura	Salinidad	pH	Oxígeno	Saturación	IHHNV
MADURACIÓN	19	En producción	28.7	34	6.6	6.0	94.5	0
MADURACIÓN	20	En producción	28.7	34	6.6	6.0	94.5	0
MADURACIÓN	21	En producción	28.7	34	7.58	5.5	85.4	0
MADURACIÓN	22	En producción	28.7	34	7.58	5.5	85.4	0
MADURACIÓN	23	Sin producción	28.6	34	7.7	5.8	91.6	1
MADURACIÓN	24	Sin producción	28.6	34	7.7	5.8	91.6	0
MADURACIÓN	25	En producción	28.5	34	7.8	5.7	88.6	0
MADURACIÓN	26	En producción	28.5	34	7.8	5.7	88.6	0
MADURACIÓN	27	En producción	28.6	34	7.7	5.9	88.7	0
MADURACIÓN	28	En producción	28.6	34	7.7	5.9	88.7	0
MADURACIÓN	29	Sin producción	28.7	34	6.6	6.0	94.5	0
MADURACIÓN	30	Sin producción	28.7	34	6.6	6.0	94.5	0
MADURACIÓN	31	Sin producción	28.6	34	7.7	5.8	91.6	0
MADURACIÓN	32	Sin producción	28.6	34	7.7	5.8	91.6	1
MADURACIÓN	33	Cuarentena	25.3	34	7.9	6.7	98.1	0
MADURACIÓN	34	Cuarentena	25.3	34	7.9	6.7	98.1	0
MADURACIÓN	35	Cuarentena	25.2	34	7.86	6.7	97.3	0
MADURACIÓN	36	Cuarentena	25.2	34	7.86	6.7	97.3	0
MADURACIÓN	37	Cuarentena	25.1	34	7.9	6.5	96.1	0
MADURACIÓN	38	Cuarentena	25.1	34	7.9	6.5	96.1	1
MADURACIÓN	39	Cuarentena	25	34	7.9	6.4	93.5	0
MADURACIÓN	40	Cuarentena	25	34	7.9	6.4	93.5	1

Elaborado por: La Autora

Anexo 3. Parámetros y presencia del virus en camaronera

Categoría	Muestra	Estadio	Temperatura	Salinidad	pH	Oxígeno	Saturación	IHHNV
CAMARONERA	41	1 mes después de la cosecha	29.1	28	8.0	8.1	122.6	0
CAMARONERA	42	1 mes después de la cosecha	29.1	28	8.0	8.1	122.6	1
CAMARONERA	43	1 mes después de la cosecha	28.4	28	8.0	5.5	78.4	1
CAMARONERA	44	1 mes después de la cosecha	28.4	28	8.0	5.5	78.4	0
CAMARONERA	45	1 mes después de la cosecha	28	28	8.2	3.4	47.6	0
CAMARONERA	46	1 mes después de la cosecha	28	28	8.2	3.4	47.6	0
CAMARONERA	47	1 mes después de la cosecha	29.2	28	8.1	7.6	103.0	0
CAMARONERA	48	1 mes después de la cosecha	29.2	28	8.1	7.6	103.0	0
CAMARONERA	49	1 mes después de la cosecha	32.3	28	7.4	5.9	94.1	0
CAMARONERA	50	En Selección antes de Producción	32.3	28	7.4	5.9	94.1	0
CAMARONERA	51	En Selección antes de Producción	32.5	28	7.5	5.6	89.4	0
CAMARONERA	52	En Selección antes de Producción	32.5	28	7.5	5.6	89.4	0
CAMARONERA	53	En Selección antes de Producción	32.4	28	7.6	5.8	93.0	0
CAMARONERA	54	En Selección antes de Producción	32.4	28	7.6	5.8	93.0	0
CAMARONERA	55	En Selección antes de Producción	32.7	28	7.6	5.5	88.0	0
CAMARONERA	56	En Selección antes de Producción	32.7	28	7.6	5.5	88.0	0
CAMARONERA	57	En Selección antes de Producción	32	28	7.3	5.8	91.6	0
CAMARONERA	58	En Selección antes de Producción	32	28	7.3	5.8	91.6	0
CAMARONERA	59	En Selección antes de Producción	32.1	28	7.4	5.6	98.5	0
CAMARONERA	60	En Selección antes de Producción	32.1	28	7.4	5.6	98.5	0
CAMARONERA	61	En Selección antes de Producción	32	28	7.8	5.3	83.1	0
CAMARONERA	62	En Selección antes de Producción	32	28	7.8	5.3	83.1	0
CAMARONERA	63	En Selección antes de Producción	31.8	28	7.8	5.6	89.0	0
CAMARONERA	64	En Selección antes de Producción	31.8	28	7.8	5.6	89.0	0
CAMARONERA	65	12 gr. Aprox	27.3	28	8.4	4.8	72.0	0
CAMARONERA	66	12 gr. Aprox	27.3	28	8.4	4.8	72.0	0
CAMARONERA	67	12 gr. Aprox	27.5	28	8.5	5.8	89.0	0
CAMARONERA	68	12 gr. Aprox	27.5	28	8.5	5.8	89.0	0
CAMARONERA	69	12 gr. Aprox	27.3	28	7.9	5.0	73.4	0
CAMARONERA	70	12 gr. Aprox	27.3	28	7.9	5.0	73.4	0
CAMARONERA	71	12 gr. Aprox	28.4	28	8.5	7.6	98.4	0
CAMARONERA	72	12 gr. Aprox	28.4	28	8.5	7.6	98.4	0
CAMARONERA	73	12 gr. Aprox	26.4	28	7.9	6.8	98.0	0
CAMARONERA	74	12 gr. Aprox	26.4	28	7.9	6.8	98.0	1
CAMARONERA	75	12 gr. Aprox	26.5	28	8.3	6.8	98.0	0
CAMARONERA	76	12 gr. Aprox	26.5	28	8.3	6.8	98.0	0
CAMARONERA	77	12 gr. Aprox	28.4	28	8.5	5.8	69.2	0
CAMARONERA	78	12 gr. Aprox	28.4	28	8.5	5.8	69.2	0
CAMARONERA	79	12 gr. Aprox	27.2	28	8.4	6.4	85.3	0
CAMARONERA	80	12 gr. Aprox	27.2	28	8.4	6.4	85.3	0
CAMARONERA	81	15 gr. Aprox	27.3	28	7.8	5.7	75.5	0
CAMARONERA	82	15 gr. Aprox	27.3	28	7.8	5.7	75.5	0
CAMARONERA	83	15 gr. Aprox	28	28	8.1	6.2	94.3	0
CAMARONERA	84	15 gr. Aprox	28	28	8.1	6.2	94.3	0
CAMARONERA	85	15 gr. Aprox	27.3	28	8.3	5.9	85.0	1
CAMARONERA	86	15 gr. Aprox	27.3	28	8.3	5.9	85.0	1
CAMARONERA	87	15 gr. Aprox	28.6	28	8.3	5.8	88.0	0
CAMARONERA	88	15 gr. Aprox	28.6	28	8.3	5.8	88.0	0
CAMARONERA	89	15 gr. Aprox	27.3	28	8.4	5.8	98.0	0
CAMARONERA	90	15 gr. Aprox	27.3	28	8.4	5.8	98.0	0
CAMARONERA	91	15 gr. Aprox	27.9	28	8.3	5.6	87.6	0
CAMARONERA	92	15 gr. Aprox	27.9	28	8.3	5.6	87.6	0
CAMARONERA	93	15 gr. Aprox	27.2	28	8.5	7.9	98.0	0
CAMARONERA	94	15 gr. Aprox	27.2	28	8.5	7.9	98.0	0
CAMARONERA	95	15 gr. Aprox	27.5	28	8.0	4.8	70.0	0
CAMARONERA	96	15 gr. Aprox	27.5	28	8.0	4.8	70.0	0
CAMARONERA	97	1 mes y medio después de la cosecha	27	28	8.1	6.5	94.0	1
CAMARONERA	98	1 mes y medio después de la cosecha	28.9	28	7.9	6.3	97.0	0
CAMARONERA	99	1 mes y medio después de la cosecha	28.1	28	8.1	6.1	90.3	0
CAMARONERA	100	1 mes y medio después de la cosecha	28.5	28	8.0	5.8	88.0	0

Elaborado por: La Autora

Anexo 4. Recolección de muestras de postlarvas



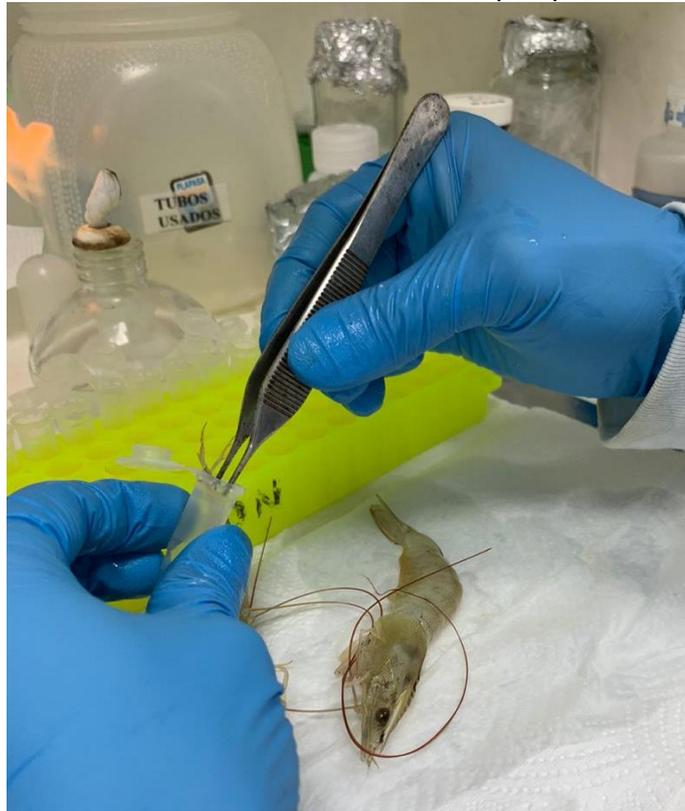
Fuente: La Autora

Anexo 5. Toma de parámetros en tanques de maduración



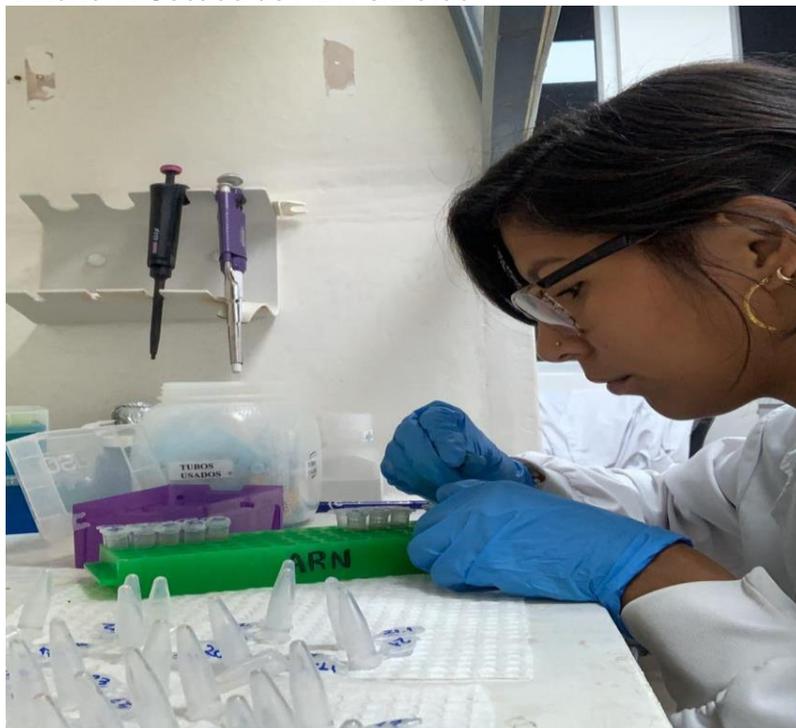
Fuente: La Autora

Anexo 6. Extracción de muestras de pleópodos



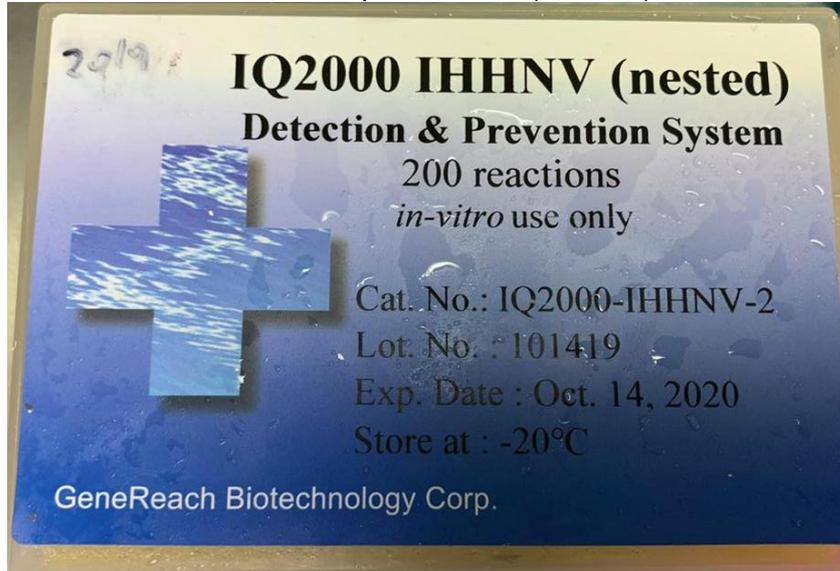
Fuente: La Autora

Anexo 7. Secado de ADN extraído



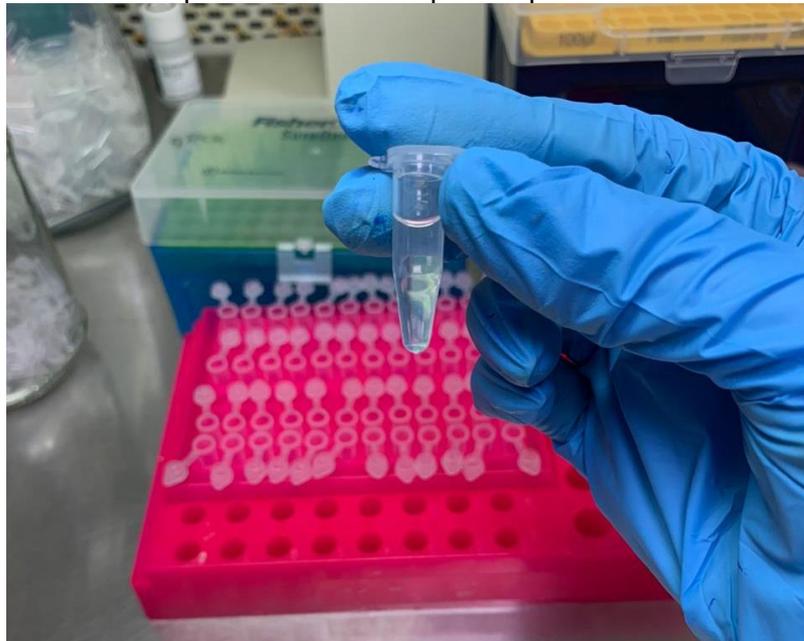
Fuente: La Autora

Anexo 8. Kit de detección para IHHNV (anidada)



Fuente: La Autora

Anexo 9. Preparación de la mix para la primera PCR



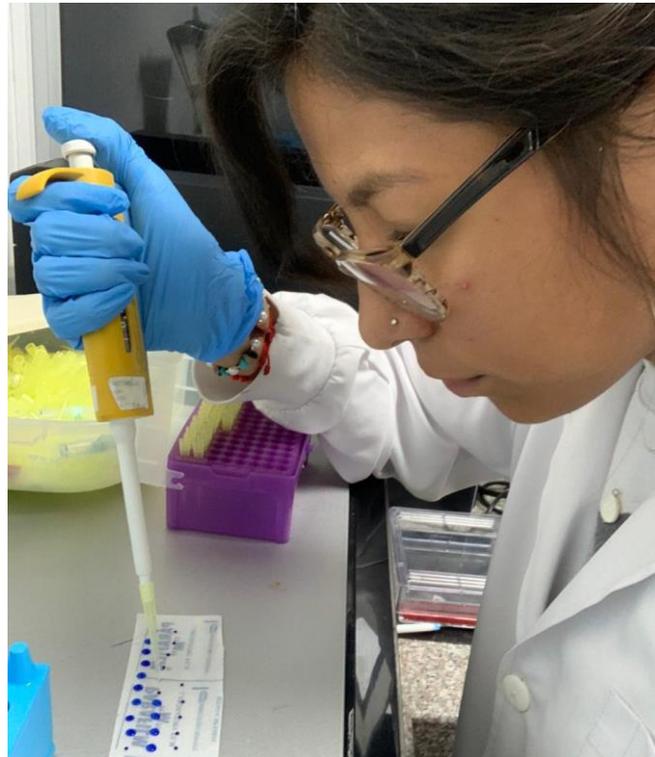
Fuente: La Autora

Anexo 10. Muestras listas en termociclador



Fuente: La Autora

Anexo 11. Colocación de muestras en tinte



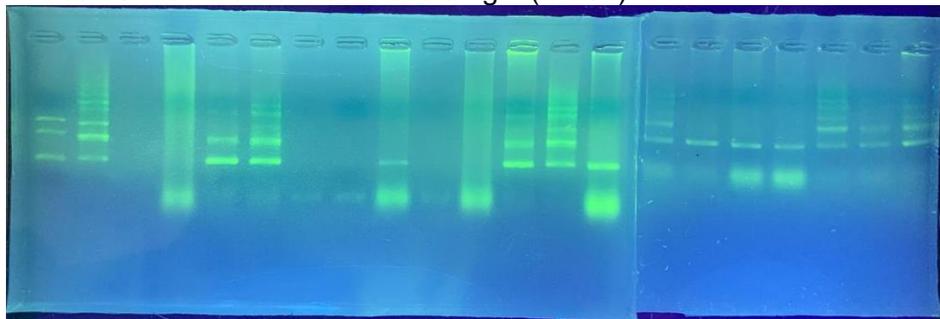
Fuente: La Autora

Anexo 12. Gel con muestras en electroforesis



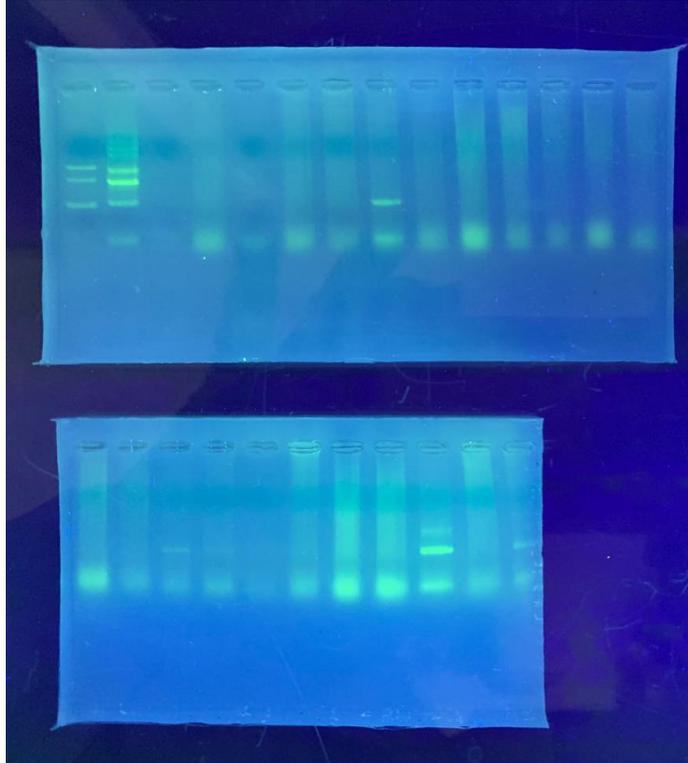
Fuente: La Autora

Anexo 13. Lectura de resultados en gel (larvas)



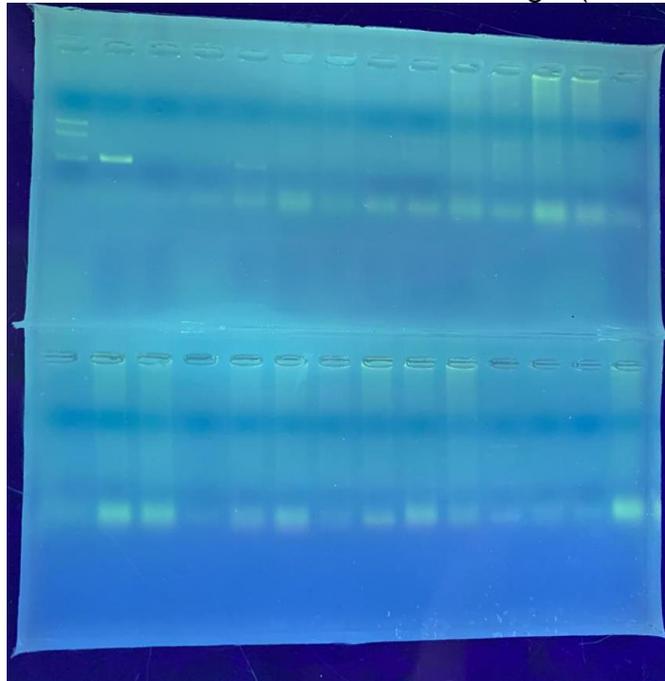
Fuente: La Autora

Anexo 14. Lectura de resultados en gel (maduración)



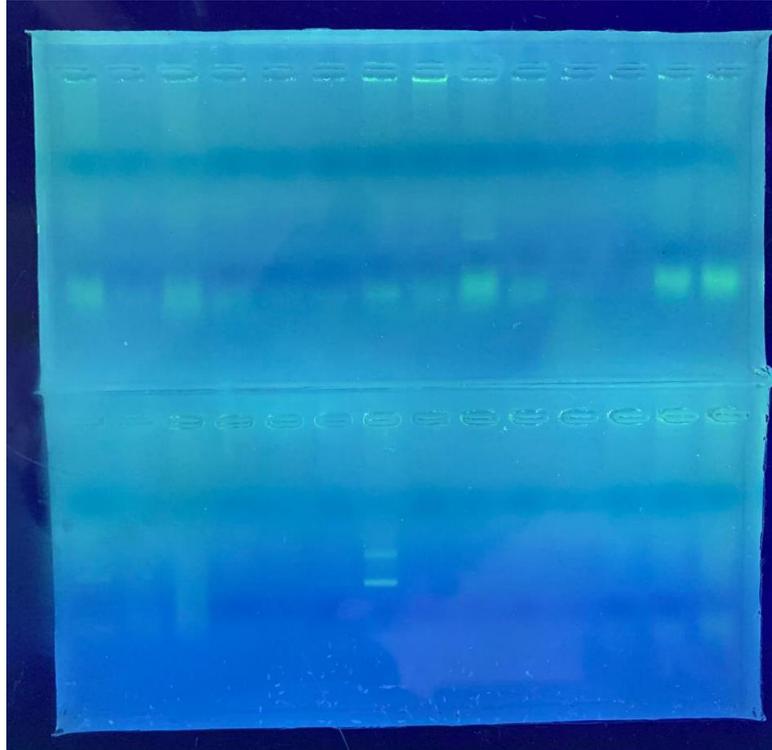
Fuente: La Autora

Anexo 15. Lectura de resultados en gel (camaronera)



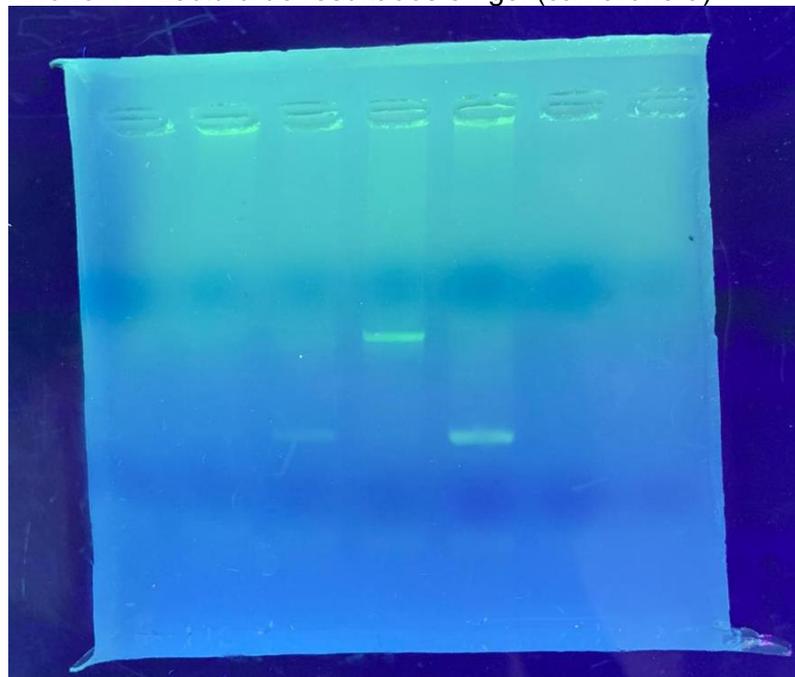
Fuente: La Autora

Anexo 16. Lectura de resultados en gel (camaronera)



Fuente: La Autora

Anexo 17. Lectura de resultados en gel (camaronera)



Fuente: La Autora



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Castro Rivera, Danae Milena**, con C.C: # 2450041575 autora del trabajo de titulación: **Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en *Litopenaeus vannamei* de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas** previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria y Zootecnista** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 2 de marzo de 2020

Castro Rivera, Danae Milena

C.C: 2450041575



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA Y SUBTEMA:	Prevalencia del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) en <i>Litopenaeus vannamei</i> de producción comercial mediante PCR en “Empagran” en la provincia del Guayas		
AUTOR(ES)	Castro Rivera, Danae Milena		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Ing. Kuffó García, Alfonso		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Medicina Veterinaria y Zootecnia		
TÍTULO OBTENIDO:	Médica Veterinaria Zootecnista		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2 de marzo de 2020	No. DE PÁGINAS:	80 páginas
ÁREAS TEMÁTICAS:	Acuicultura, Producción de camarón, Virología		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	IHHNV, <i>Litopenaeus vannamei</i> , parámetros, PCR, IQ2000, anidada		
RESUMEN:	<p>Este proyecto tuvo lugar en el laboratorio de genética perteneciente al departamento de investigación y desarrollo en el área de biología molecular de la empresa Empagran S.A que está ubicado en el km 19.5 vía a la costa en la provincia del Guayas. Se contó con un total de 100 muestras de <i>Litopenaeus vannamei</i>, las cuales se distribuyeron en 3 estadios: postlarvas, animales de maduración y animales de camaronera. El objetivo del proyecto fue evaluar la presencia del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa y correlacionarlo con las diferentes variables escogidas (temperatura, salinidad, pH, oxígeno y saturación). Se usó el kit de IQ2000 IHHNV (anidada) para la PCR como método de análisis. Al finalizar el proyecto y realizar los respectivos análisis se concluyó que la prevalencia del IHHNV fue baja y que las variables sí influyeron en la presencia del virus con excepción de la saturación. En cuanto a la comunidad camaronera, se recomienda un mejor control y optar por pruebas más sensibles y precisas para la detección de enfermedades.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593-981778455	E-mail: danaecastrorivera@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Caicedo Coello, Noelia Carolina M. Sc.		
	Teléfono: +593-987361675		
	E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			