



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

INFLUENCIA DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES EN EL  
CULTIVO DE CAMARÓN BLANCO (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) Y SUS  
AVANCES EN EL ECUADOR

GUTIERREZ NOVILLO CARLOS ADRIAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

INFLUENCIA DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES EN  
EL CULTIVO DE CAMARÓN BLANCO (*LITOPENAEUS*  
*VANNAMEI*) Y SUS AVANCES EN EL ECUADOR

GUTIERREZ NOVILLO CARLOS ADRIAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

EXAMEN COMPLEXIVO

INFLUENCIA DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES EN EL CULTIVO DE  
CAMARÓN BLANCO (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) Y SUS AVANCES EN EL  
ECUADOR

GUTIERREZ NOVILLO CARLOS ADRIAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA

MACHALA, 14 DE FEBRERO DE 2022

MACHALA  
14 de febrero de 2022

# INFLUENCIA DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES EN EL CULTIVO DE CAMARÓN BLANCO (LITOPENAEUS VANNAMEI) Y SUS AVANCES EN EL ECUADOR

*por* Carlos Gutierrez

---

**Fecha de entrega:** 07-feb-2022 11:05a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1756920634

**Nombre del archivo:** TRABAJO\_COMPLEXIVO\_-\_SR,\_GUTIERREZ.docx (951.27K)

**Total de palabras:** 4945

**Total de caracteres:** 27533

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, GUTIERREZ NOVILLO CARLOS ADRIAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado INFLUENCIA DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES EN EL CULTIVO DE CAMARÓN BLANCO (LITOPENAEUS VANNAMEI) Y SUS AVANCES EN EL ECUADOR, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 14 de febrero de 2022



GUTIERREZ NOVILLO CARLOS ADRIAN  
1104902497

## RESUMEN

En la industria de cultivo de camarón el rápido desarrollo tecnológico a garantizado que se incrementa a nivel mundial la producción en granjas acuícolas, es por eso que apoyándose de áreas de estudio como la Biología Molecular, dentro del campo de diagnóstico han surgido diferentes técnicas moleculares que se fundamentan en la detección de ácidos nucleicos como ADN y ARN, permitiendo mayor acceso para realizar estas técnicas es por eso que en los últimos años en nuestro país es más fácil aplicarlas como un apoyo en los cultivos de camarón, para determinar el tipo de diagnóstico que se desea identificar, una de las técnicas más utilizadas en nuestro país son las técnicas de amplificación de genes, que ha representado avances en la aplicación siendo realizada hasta como un apoyo en la asesoría técnica por diferentes empresas, permitiendo aplicar acciones inmediatas para combatir los microorganismos patógenos que afectan a nuestros cultivos. Es por eso que este trabajo se enfoca en determinar cuáles son las técnicas moleculares utilizadas en el campo de la biología molecular, establecer que agentes patógenos como bacterias, hongos y virus afectan a los cultivos, de igual manera establecer que técnica es más utilizada en nuestro país como la técnica de PCR, como se realizan, sus fases y que aplicación tienen en el campo acuícola relacionándola con otras técnicas utilizadas para determinar la presencia de microorganismos patógenos que causan diversas enfermedades en los cultivos de *Litopenaeus vannamei*, fundamentándose en la detección de sus ácidos nucleicos.

**Palabras clave:** Biología, Enfermedades, Diagnostico, Técnicas, PCR.

## **ABSTRACT**

In the shrimp farming industry, rapid technological development has guaranteed a worldwide increase in production in aquaculture farms, which is why, supported by areas of study such as Molecular Biology, within the field of diagnosis, different molecular techniques have emerged that they are based on the detection of nucleic acids such as DNA and RNA, allowing greater access to carry out these techniques, which is why in recent years in our country it is easier to apply them as a support in shrimp farming, to determine the type of diagnosis that is to be identified, one of the most used techniques in our country are gene amplification techniques, which have represented advances in the application, being carried out even as a support in technical advice by different companies, allowing immediate actions to be applied to combat the pathogenic microorganisms that affect our crops. That is why this work focuses on determining which are the molecular techniques used in the field of molecular biology, establishing which pathogens such as bacteria, fungi and viruses affect crops, in the same way establishing which technique is most used in our country as the PCR technique, how it is carried out, its phases and what application they have in the aquaculture field, relating it to other techniques used to determine the presence of pathogenic microorganisms that cause various diseases in *Litopenaeus vannamei* crops, based on the detection of their nucleic acids.

**Key words:** Biology, Diseases, Diagnosis, Techniques, PCR.

# ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	4
2.	ANTECEDENTES DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES APLICADAS EN EL CULTIVO DE CAMARON EN ECUADOR. ....	6
2.1	Antecedentes de la epidemiología molecular .....	6
2.2	Importancia de la epidemiología molecular. ....	6
3.	Aplicaciones de la epidemiología molecular .....	7
3.1	Métodos moleculares para tipificación: .....	7
3.2	Métodos moleculares fenotípicos y genotípicos: .....	7
a.	Reacción en cadena de la polimerasa (RCP) .....	8
b.	Secuenciación del genoma .....	10
-	Secuencia paralela, masiva o de nueva generación (NGS) .....	11
-	Pirosecuencia .....	11
c.	Hibridación de sondas de ADN.....	12
d.	(Polimorfismo amplificado aleatorio ADN) .....	12
e.	(Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción) .....	13
4.	PRINCIPALES ENFERMEDADES EN EL DE CAMARÓN (LITOPENAEUS VANNAMEI).....	13
5.	ENFERMEDADES MÁS COMUNES QUE AFECTAN EN LARVICULTURA DE CAMARÓN <i>LITOPENAEUS VANNAMEI</i> .....	15
6.	ENFERMEDADES MÁS COMUNES QUE AFECTAN EL ENGORDE DE CAMARÓN <i>LITOPENAEUS VANNAMEI</i> .....	16
7.	HERRAMIENTAS MOLECULARES MAS UTILIZADAS COMO TÉCNICAS DE DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE CAMARÓN EN ECUADOR.....	18
	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) .....	19
	PCR en tiempo real o qPCR.....	22
8.	CONCLUSIONES.....	24
9.	BIBLIOGRAFÍA .....	25

## **1. INTRODUCCIÓN**

En nuestro país la acuicultura y comercialización de camarón es una industria dinámica que cada día aumenta favoreciendo a la economía del Ecuador, que según el Banco Central del Ecuador, nos revela un crecimiento a través de los años, siendo una de las industrias más rentables a nivel nacional aportando \$721,7 millones de dólares en el año 2019, en las provincias de Guayas, Manabí, Esmeraldas y El Oro. En los datos más actuales tenemos que entre enero y noviembre de 2020 el principal producto de exportación no petrolero fue el camarón, con 637 mil toneladas métricas, que representaron un ingreso de USD 3.580 millones. Es por eso que al ser una industria que dinamiza la economía nacional sus cultivos e instalaciones deben funcionar de forma óptima garantizando la salud de los organismos cultivados y la calidad de producto vendido a otros países.

En la actualidad el crecimiento del cultivo de camarón en el país se ha incrementado de forma que se ha constituido una aportación importante para la economía del país la cual genera diversas fuentes de trabajo, aportando al crecimiento de las condiciones socio-económicas de las provincias costeras. A través del tiempo los cultivos se han tecnificado llegando a tener un incremento en sus densidades de siembra de organismos, por lo tanto a esto se le suma factores químicos, físicos y biológicos del ambiente que están en relación con los cultivos, la alteración de los mismos y la introducción de microorganismos patógenos a los cultivos, desencadenan las enfermedades dentro de los cultivos que afectan al crecimiento de los camarones, estas enfermedades son un problema a corto o largo plazo, que al final resultan en pérdidas económicas para los productores, para controlar esta problemática se han

desarrollado estudios para el control y prevención de las enfermedades en los cultivos. Es por eso que dentro de los cultivos debe existir un buen manejo por parte del personal al igual que una capacitación adecuada en el ámbito de manejo de una instalación acuícola, en relación a esto surge la necesidad de utilizar algunas herramientas moleculares para garantizar el éxito en el cultivo.

Dada la amenaza constante de la aparición repentina y devastadora de algún agente infeccioso de naturaleza viral, el crecimiento sostenido de esta industria mundial depende fundamentalmente de poder establecer un control sanitario efectivo que evite la dispersión de los virus, tanto entre las granjas como hacia el medio natural. Para contrarrestar la causa de las potenciales pérdidas en la producción de camarón por el efecto de las epizootias virales, la Biología Molecular ofrece una opción que puede representar la solución definitiva para detener la diseminación de los virus en y entre las granjas camaroneras. Se trata de las herramientas moleculares diagnósticas, las cuales pueden desempeñar un papel preponderante en la consecución de esta meta.

En esta contribución, se revisaron las herramientas tradicionales empleadas para el diagnóstico de epizootias virales, se describe el diseño y la construcción de las herramientas moleculares, se propone éstas como una alternativa más específica, sensible, oportuna y eficaz para la detección y diagnóstico de agentes virales y, finalmente, se sugiere una estrategia de control sanitario para frenar la dispersión globalizada de los agentes virales alrededor del mundo.

## **2. ANTECEDENTES DEL USO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES APLICADAS EN EL CULTIVO DE CAMARON EN ECUADOR.**

En el amplio campo de estudio de la biología molecular una de sus finalidades es profundizar el conocimiento de los procesos que se llevan a cabo dentro de los seres vivos en su composición molecular, entender sobre su estructura y función de la moléculas biológicamente importantes para los seres vivos, entendiendo esencialmente las interacciones dentro de las células, como a su vez entender el comportamiento de células extrañas para los organismos pero que habitan en el ambiente, las cuales invaden los organismos ocasionando una enfermedad, es por eso que existen un sin número de áreas especializadas para el estudio del comportamiento de estas moléculas como de microorganismos patógenos que tienen una composición molecular más compleja que ocasionan problemas en la salud de los seres vivos, dentro de estas ramas de estudio de la biología molecular tenemos la epidemiología molecular y la patología (Varela, 2020)

### **2.1 Antecedentes de la epidemiología molecular**

Es una rama de estudio de la biología molecular, que se enfoca en el estudio de las enfermedades empleando herramientas moleculares que facilitan la identificación de agentes patógenos, teniendo como fin descubrir sobre la distribución de dicha enfermedad y sus factores de riesgo con la finalidad de evitar el desarrollo natural de dichos microorganismos que expresan una enfermedad, basándose en el estudio, detección, cuantificación, caracterización de microorganismos que afectan la salud de los seres vivos, analizando las relaciones existentes entre genotipos y el factor de virulencia de dichos agentes patógenos (Angarita, 2017)

### **2.2 Importancia de la epidemiología molecular.**

En cuanto a los diagnósticos de enfermedades, es importante tener en cuenta un diagnóstico molecular el cual tiene un impacto importante en las distintas áreas de salud, llevando a cabo una

serie de herramientas importantes para la detección de agentes patógenos y el origen de las enfermedades, dentro de los principios de la epidemiología molecular es el estudio de las enfermedades detectadas a través de la implementación de herramientas moleculares que han permitido conocer el genoma de bacterias, virus, viroides, hongos y parásitos, que son los agentes etiológicos que ocasionan las enfermedades en los sistemas de producción (Franco, 2013)

### **3. Aplicaciones de la epidemiología molecular**

Se emplea como una metodología de diagnóstico para diversas patologías, entre las cuales tenemos:

#### **3.1 Métodos moleculares para tipificación:**

La tipificación es la caracterización e identificación de aquellos microorganismos patógenos, permitiendo saber que microorganismos causan la infección, se puede determinar su fuente, su diseminación, estableciendo la prevalencia del agente infeccioso en una población. La técnica de tipificación que se utilizara depende de qué sistema se analiza, siempre y cuando se evalúe que capacidad para dar información genere dicha técnica, se debe tener en cuenta los siguientes criterios para realizarla (Angarita, 2017):

- Detección, identificación y tipificación de la totalidad de los aislados analizados.
- Repetibilidad y reproducibilidad del método.
- Estabilidad genética del marcador, neutral por las fuerzas evolutivas.
- Exclusión de los diferentes grupos de individuos con probabilidades elevadas.
- Arroja resultados similares al de otras técnicas moleculares empleadas.

#### **3.2 Métodos moleculares fenotípicos y genotípicos:**

En cuanto a los métodos fenotípicos se encargan de la determinación de diferentes

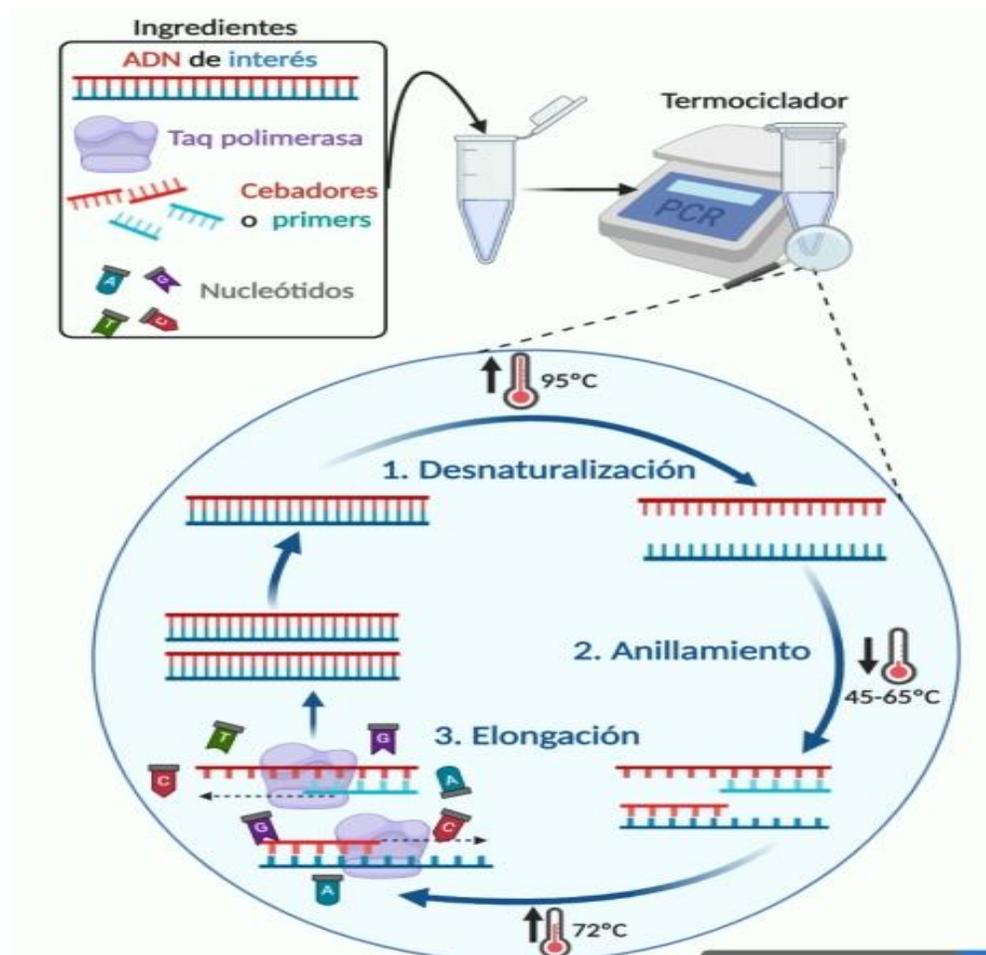
características bioquímicas, se constituyen como una de las principales herramientas que compara microorganismos en cuanto a la determinación de la actividad enzimática, su capacidad metabólica, por otro lado no se puede identificar genes, mutaciones o polimorfismo. Los métodos genotípicos se encargan de estudiar el genoma del organismo que ocasiona la enfermedad, este método analiza características como polimorfismos de los agentes etiológicos, localizan el material genético del organismo que permite cambios en la expresión genética, llevando a cabo alternativas que son más reproducibles y con mayor estabilidad (Angarita, 2017).

Las diferentes técnicas de genotipificación son:

- a. La reacción en cadena de polimerasa (RCP).
- b. Secuenciación del genoma.
  - a. Secuenciación NGS.
  - b. Pirosecuencia.
- c. Hibridación con las sondas de ADN.
- d. RAPD.
- e. RFLP.
  - a. **Reacción en cadena de la polimerasa (RCP)**

Las técnicas de tipificación molecular basadas en RCP representan un avance en el estudio de enfermedades infecciosas llevándose a cabo estudios epidemiológicos moleculares destinados a identificar las relaciones clónales que existen entre aislados de la misma especie, se utiliza la 'tipificación' que es la amplificación de genes o polimorfismos de secuencias de ADN. Los diferentes métodos genotípicos se encargan de amplificar

regiones específicas de ADN *in vitro* en los cuales se utilizan delimitadores de una región de amplificación; de una copia de la región amplificada se obtienen millones de copias para que pueda ser detectada y reflejada en la presencia de la región de ADN en la muestra a analizar; Para esta modificación, diversas proteínas actúan cooperativamente sintetizando hebras de ADN a partir de otra hebra que funciona como molde (Campa, 2017).



**Figura 1.** Esquema de una PCR básica. Se mezclan todos los reactivos, se introduce el tubo en el termociclador y se produce la PCR (desnaturalización, anillamiento y elongación) en varios ciclos.

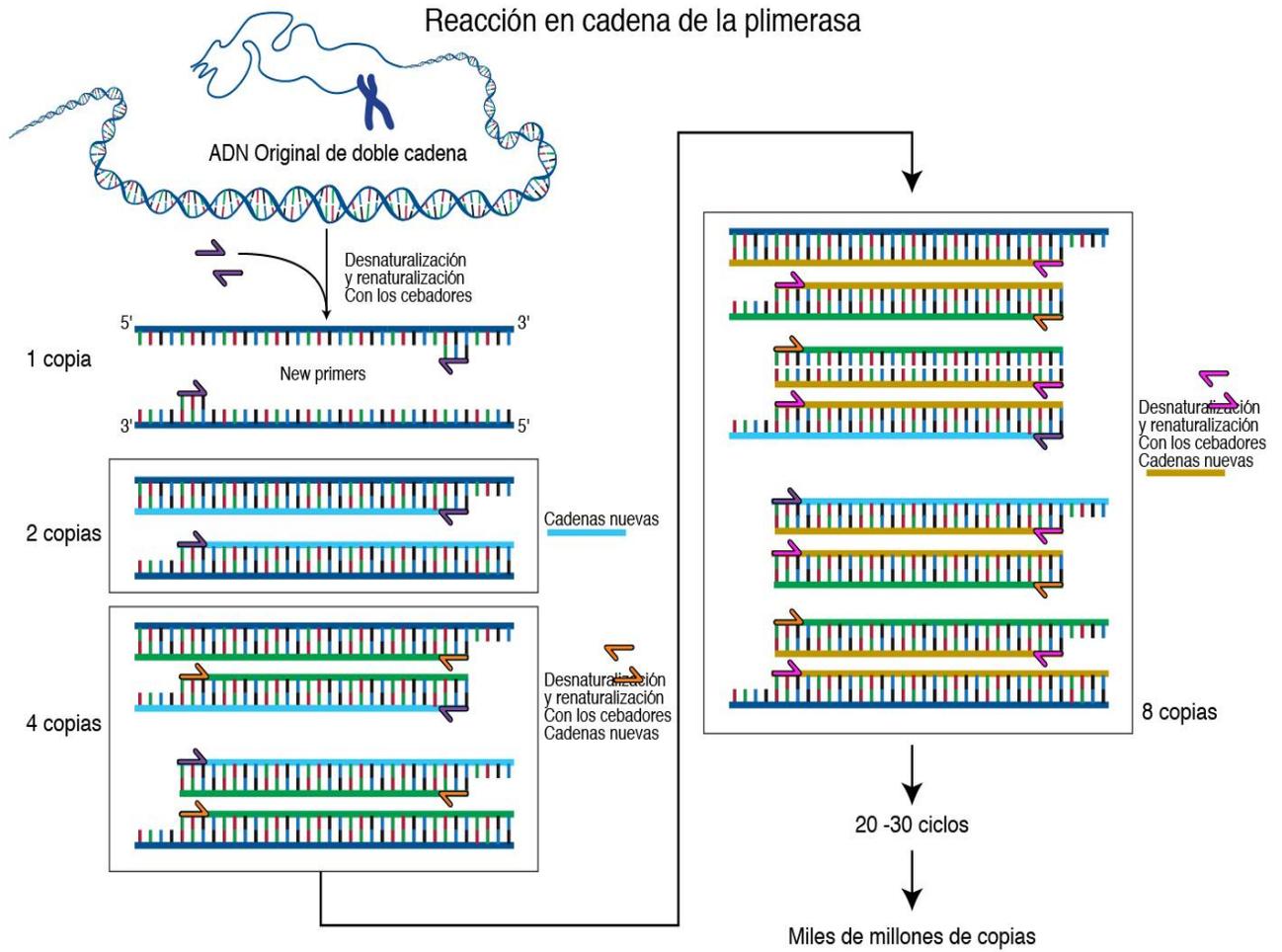


Figura 2. Reacción en cadena de polimerasa. Fuente. genome.gov.

### b. Secuenciación del genoma

Determinar la secuencia completa de ADN en el genoma del organismo; incluye la identificación de las bases Adenina, Citosina, Guanina y Timina en un fragmento de ADN en su respectivo orden. Se recopilan secuencias de hasta 500 bases, que se ensamblan en un genoma de referencia para la secuenciación completa del genoma. Este método cambió la comprensión de la genética basada en identificar las verdaderas causas de la herencia, enfocándose en el estudio genético de individuos con fenotipos definidos y enfermedades hereditarias mendelianas producidas por genes conocidos; Valorar el fenotipo y la secuencia

del gen al que afecta y son muy sensibles para detectar mutaciones (Bolívar, 2014)

- **Secuencia paralela, masiva o de nueva generación (NGS)**

Las secuencias de ácidos nucleicos ayudan a establecer el orden de los nucleótidos presentes en la molécula de ADN o ARN en estudio. Su uso se ha incrementado en los últimos años en todo el mundo; Es así como se realiza NGS gracias a la capacidad que ofrece de reconocer una enorme y paralela secuencia de millones de fragmentos de ADN y/o ARN presentes en una muestra, con el uso de tecnología avanzada, a un costo muy bajo y muy alto, teniendo un rendimiento muy bueno para que un genoma completo se pueda amplificar en un día. Tiene una fuerte aplicación en la investigación epidemiológica debido a las ventajas que ofrece este tipo de enfoque, como el uso de genomas completos para establecer relaciones filogenéticas entre especies, identificación de posibilidades recombinantes y marcadores epidemiológicos que contribuyen a la identificación de posibles mutaciones en una población. Por lo tanto, se considera una tecnología revolucionaria en la investigación epidemiológica aplicada. Aplicaciones para la ciencia básica, investigación traslacional, diagnóstico clínico, agronomía, ciencia forense y ciencia aplicada (Angarita, 2017).

- **Pirosecuencia**

Se caracteriza por la cadena para sintetizar el ADN con detección en tiempo real; Esta técnica se utiliza para identificar instalaciones individuales o una secuencia de ácido nucleico corta en ubicaciones predefinidas, utilizando fosfatos al combinar nucleótidos en la cadena de ADN, luego una serie. Reacciones enzimáticas. Este es el único método de secuencia que se ha desarrollado como un reemplazo para secuencias de ADN normales; En comparación con otras técnicas moleculares, la piroseguridad es muy simple, poderosa, rápida, sensible, muy cuantitativa y precisa, flexible, efectiva y la capacidad de automatizar muestras; Se ha

utilizado en estudios analíticos sobre variantes genéticas, investigación agronómica para desarrollar cebadores y sondas específicas que proporcionan programas de certificación de calidad de los alimentos, cambiando los animales de la comunidad microbiológica de diferentes entornos, resoluciones. Casos en ciencia legal, microbiología, así como en la detección de mutación en patología de la atención clínica (Angarita, 2017).

### **c. Hibridación de sondas de ADN**

Se conoce como análisis en sus muestras para la presencia de ácidos nucleicos (ADN o ARN), la combinación antiparalela de estas con una molécula de doble cadena. Se utilizan para descubrir la molécula diana de la sonda que la complementa. Muchas técnicas moleculares se basan en la hibridación, como la reacción en cadena de la polimerasa; Se utilizan para diagnosticar enfermedades, identificar microorganismos patógenos, estudiar perfiles de expresión génica, localizar genes en cromosomas o ARNm en tejidos in situ y comparar especies patógenas (Tellez, 2015).

### **d. (Polimorfismo amplificado aleatorio ADN)**

También conocido como polimorfismo de producto de amplificación aleatoria, esta es una técnica que utiliza marcadores moleculares para amplificar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de secuencias cortas de ADN polimórfico utilizando una base de secuencia corta (10 a 12 pares). Dado que se trata de una tecnología basada en PCR, debe controlar muchos factores que pueden afectar directamente el rendimiento de la tecnología, como los dNTP, la polimerasa TaqDNA, la temperatura de hibridación, el tiempo de expansión, el ciclo y la integridad de las hebras del modelo. En investigación, este tipo de tecnología utiliza análisis genéticos para poder establecer similitudes entre comunidades de una misma especie (ej. bacterias y plantas), un ejemplo es el estudio de la relación entre la resistencia al arsénico

en microorganismos de muestras de suelo, estudio realizado en India y publicado en (Medallo, 2020)

**e. (Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción)**

También se llaman fragmentos de restricción de longitud polimórfica, lo que resulta en los cambios de la secuencia de ADN se registran mediante enzimas limitadas utilizadas para cortar cadenas de ADN en posiciones conocidas; Se utilizan principalmente como marcadores en tarjetas genéticas. Es un método comúnmente utilizado para su velocidad para obtener resultados, bajo costo y especificidad; Algunas condiciones de su actividad, incluido el uso de enzimas limitadas, optimización y análisis y análisis de productos amplificados (piezas restringidas) se electroforizadas principalmente en geles aleatorios. Entre las ventajas descritas, encontramos que se trata de su desempeño, necesita el instrumento mínimo en el laboratorio; Se ha aplicado en varios estudios que permiten establecer o identificar animales humanos y bacterianos. (Cobo, 2018)

**4. PRINCIPALES ENFERMEDADES EN EL DE CAMARÓN (*LITOPENAEUS VANNAMEI*).**

Tabla 1. Cronología global de las principales enfermedades infecciosas o parasitarias en camarones penaeidos.

<b>Año</b>	<b>Lugar</b>	<b>Enfermedad</b>	<b>Agente etiológico</b>	<b>Tipo de patógeno</b>
<b>1971</b>	Texas, EEUU	<b>Micosis larval</b>	<i>Lagenidium</i> sp.	Fúngico
<b>1974</b>	Florida, EEUU	<b>Baculovirus tetraédrica</b>	<i>Baculovirus penaei</i> (BP)	Viral
<b>1975</b>	Georgia, EEUU	<b>Enfermedad del Camarón Algodonoso</b>	Microsporidios	Fúngico
<b>1978</b>	Florida, EEUU	<b>Infección por Bacterias Filamentosas</b>	<i>Leucothrix mucor</i>	Bacteriano
<b>1980</b>	México	<b>Baculovirus esférica</b>	MBV	Viral
<b>1981</b>	Hawaii, EEUU	<b>Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa</b>	IHHNV	Viral

1981	Japón	<b>Necrosis Baculoviral de la Glándula Digestiva</b>	BMN	Viral
1982	Tailandia	<b>Gregarinosis</b>	<i>Nematopsis</i> spp.	Protista
1982	Tailandia	<b>Fusariosis</b>	<i>Fusarium solani</i>	Fúngica
1985	Malasia	<b>Parvovirosis Hepatopancreática</b>	HPV	Viral
1988	Cuba	<b>Haplosporidiosis Hepatopancreática</b>	HPH	Protista
1989	Ecuador	<b>Necrosis Séptica del Hepatopáncreas</b>	SHPN	Bacteriano
1990	Texas, EEUU	<b>Hepatopancreatitis Necrotizante</b>	<i>Hepatobacter penaei</i> (NHP)	Bacteriano
1991	Tailandia	<b>Virosis de la Cabeza Amarilla</b>	YHV	Viral
1992	Australia	<b>Virosis Vacuolizante del Órgano Linfoide</b>	LOVV	Viral
1992	Ecuador	<b>Virosis del Síndrome de Taura</b>	TSV	Viral
1993	Japón	<b>Enfermedad de las manchas blancas</b>	WSSV	Viral
1993	Texas, EEUU	<b>Gregarinosis larval</b>	<i>Paraophiodina scoleoides</i>	Protista
1996	Australia	<b>Virosis de Mourilyan</b>	MoV	Viral
1996	Australia	<b>Virosis de la Mortalidad de los Reproductores</b>	SMV	Viral
1996	Australia	<b>Virosis Asociada a las Branquias</b>	GAV	Viral
2002	Brasil	<b>Mionecrosis Infecciosa</b>	IMNV	Viral
2002	China	<b>Nodavirosis de la Mortalidad Encubierta</b>	CMNV	Viral
2003	Tailandia	<b>Microsporidiosis Hepatopancreática</b>	<i>Enterocytozoon hepatopenaei</i> (EHP)	Fúngico
2004	Belice	<b>Nodavirosis de <i>Penaeus vannamei</i></b>	PvNV	Viral
2004	Colombia	<b>Espiroplasmosis</b>	<i>Spiroplasma penaei</i>	Bacteriano
2008	Tailandia	<b>Enfermedad de la Deformidad del Segmento Abdominal</b>	Desconocido (ASDD)	Idiopático
2008	Guatemala	<b>Estreptococosis</b>	<i>Streptococcus</i> sp.	Bacteriano
2009	China	<b>Enfermedad de la Necrosis Aguda del</b>	AHPND (EMS)	Bacteriano

		<b>Hepatopáncreas</b>	
<b>2014</b>	China	<b>Iridovirus de Hemocitos del Camarón</b>	Viral
<b>2019</b>	Norteamérica	<b>Infección amebiana</b>	<i>Paramoeba</i> sp. Protista

**Nota.** En esta se percibe claramente la continuidad en la ocurrencia de brotes y aparición de nuevas enfermedades. Siempre ha habido una enfermedad emergente, un enemigo de moda al cual combatir. A pesar de los esfuerzos crecientes y el mayor conocimiento sobre patobiología del camarón, no han dejado de aparecer nuevas enfermedades (Yoshinaga 2019).

## **5. ENFERMEDADES MÁS COMUNES QUE AFECTAN EN LARVICULTURA DE CAMARÓN *LITOPENAEUS VANNAMEI***

Son varias las enfermedades presentes en el cultivo larvario de camarón como la enfermedad de las bacterias luminiscentes, ocasiona mortalidades elevadas en la producción de larvas, se observa en el estadio de mysis etapa en la cual se manifiesta esta enfermedad siendo especies del genero *Vibrio harveyi*, *V. Splendidus* causantes de esta enfermedad, cuyos signos clínicos son la presencia de anorexia, la textura del animal se torna textura blanda (aguados), hepatopáncreas pálido y reflejándose en una parasitosis teniendo un intestino vacío (Valera, Peña, y Aranguren, 2017).

Dentro de estas patologías tenemos que tener en cuenta los factores ambientales que afectan a el crecimiento de las larvas de camarón como es el cambio de clima aumenta la salinidad, altera la temperatura y el pH causando que estas bacterias disminuyan el pH del agua afectando el habitat del camarón en el estanque. del agua en el estanque, ocasionando que exista un contagio de bacterias o virus, en nuestro país existe con mayor frecuencia infecciones causadas por microorganismos del genero *Hepatobanter penaei* y *Vibrio*, como medida de prevención mantener el agua del cultivo dentro de temperaturas mayores a 27 °C, en cierto grado evita que estas enfermedades se propaguen es por eso que en el cultivo larvario las

enfermedades más comunes son por la presencia de bacterias luminiscentes, infecciones causadas por síndrome de Zoea II y cabe resaltar la introducción a los cultivos de epibiontes bacterianos (Valverde y Varela, 2018).

El síndrome da Zoea II o síndrome de las bolas blancas, es otra enfermedades presentes en la producción larvaria, denominada así por el desprendimiento de las células del hepatopáncreas observándose como formaciones circulares en el tracto digestivo, la reacción se debe a que las toxinas de bacterias como *Vibrio sp.* De igual manera se asocia a bacterias del genero *V. alginolyticus* y *V. harveyi* con el síndrome de Zoea II, presentando mortalidades en 35 a 48 horas transcurrida la metamorfosis a Zoea II, los signos clínicos que se presentan son anorexia, intestino vacío, letargia, nado errático, de igual manera los organismos se fondean. De igual manera existen enfermedades producidas por epibiontes que causan patologías en el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei*, epibiontes como *Acineta sp.*, *Zoothamnium sp.*, y *Epistylis sp.*, también encontramos la bacteria *Leucothrix mucor*, que causa la patología de las branquias sucias en el camarón con un color amarillento verdoso hasta llegar a un color café, causando la muerte por la asfixia (Paucar, 2018)

## **6. ENFERMEDADES MÁS COMUNES QUE AFECTAN EL ENGORDE DE CAMARÓN *LITOPENAEUS VANNAMEI***

En el proceso de engorde de camarón un de las enfermedades que puede causar un 90 por ciento de mortalidad en el cultivo, es el síndrome de la gaviota asociado su nombre así por la presencia de gaviotas sobrevolando en el estanque alimentándose de camarón, el mismo que se encuentra nadando en la superficie o en las orillas del estanque, sus síntomas son similares a

los de la Vibriosis sistémica, siendo en su mayoría colonias de bacterias verdes aisladas en el medio de cultivo agar TCBS. Dentro de los factores que propician esta enfermedad son los cambios de salinidad en el agua, altas temperaturas, elevados niveles de nitrógeno (Alvarez, 2019).

Otra de las patologías presentes es el camarón lechoso o microsporidiosis del hepatopáncreas por *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), causadas por especies como *Pleistophora*, *Agmasoma*, *Ameson*, *Vavraia*, *Enterospora* y *Perezia*, estos microorganismos se replican en el citoplasma de las células epiteliales de los organismos, en un estanque las densidades de organismos afectados es elevada, por ende retarda el crecimiento en cuanto a la talla de camarones, afectando dentro de los 60 a 80 días de cultivo (Varela, 2020).

En nuestro país tenemos el síndrome de Taura, es una infección causada por el virus que tiene el mismo nombre que la enfermedad el cual es virus del síndrome de Taura (VST), microorganismos patógeno perteneciente a la familia de los *Dicistroviridae* del género *Aparavirus*, su transmisión es horizontal el virus invade y se multiplica en las células epiteliales de la epidermis del exoesqueleto, epidermis cuticular en las branquias, intestino anterior y posterior de los camarones, afectando órganos como el hepatopáncreas, glándula antenal, órgano hematopoyético, epitelio del intestino (OIE, 2018).

Una de las enfermedades más conocidas en nuestro país debido a su incidencia en la historia del cultivo de camarón nuestro país es la Mancha Blanca (WSSV), en la familia *Nimavirus*, esta enfermedad tiende a que los camarones infectados dentro de los cultivos minoran el consumo de balanceado, los animales sufren de letargo, generando mortalidades de 100 % durante los primero tres días hasta el décimo una vez la enfermedad se ha manifestado. En la cutícula presenta manchas blancas de hasta 2 mm a 0,5 mm de diámetro, visibles en el

caparazón, cromatóforos cuticulares extendidos, el camarón tiene una coloración rojiza y café ya cuando la infección ha invadido el organismo (Moreno, 2021).

La enfermedad del síndrome de mortalidad temprana o síndrome de la necrosis hepatopancreática aguda, es una enfermedad que se caracteriza por la alta mortalidad en sus primeros 30 días del cultivo, si no se controla puede llegar a infectar el 100 por ciento de organismos en el cultivo. El EMS/AHPNS es causado por la cepa del *Vibrio parahaemolyticus* el cual coloniza el tracto digestivo ya que estos organismos liberan sus toxinas. La enfermedad se manifiesta con nado errático, flacidez en los organismos, anorexia, el crecimiento se reduce, intestino entre cortado y el hepatopáncreas pálido y sus túbulos atrofiados (Varela, 2020).

## **7. HERRAMIENTAS MOLECULARES MAS UTILIZADAS COMO TÉCNICAS DE DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE CAMARÓN EN ECUADOR.**

En el sector camaronero sus protagonistas en este caso los productores han optado por llevar a cabo acciones que se enfocan en optimizar los procesos de cultivo, el uso de nuevos insumos en los cultivos, la aplicación de tecnología, mejorar la genética de la especie obteniendo una mayor resistencia, aplicar estrategias de planificación administrativa encaminadas a un mejor control de las empresas, entre otras estrategias aplicadas en el cultivo (Aldecoa, 2017). Efectuando estas mejoras, la resiliencia en el sector es la capacidad que tienen productores, plantas procesadoras, laboratorios de cultivo de larvas, distribuidores de camarón y empresas encargadas de la exportación del producto para así tomar medidas de prevención y corrección para el mejoramiento de la calidad del producto y aumentar los volúmenes de producción en el pasar de los años.

De tal manera la incidencia de enfermedades infecciosas en los cultivos de camarón

blanco, es una de las principales amenazas para los cultivos de esta especie en el mundo y en nuestro país, ya que estos organismos son atacados por agentes infecciosos como virus, bacterias, hongos y parásitos. Este incremento en la incidencia de enfermedades tiene su impacto en la producción de estos organismos da lugar al desarrollo de un sin número de técnicas que garanticen el diagnóstico de estas enfermedades para saber qué tipo de microorganismo infeccioso ataca a los organismos presentes en los cultivos (Saavedra. 2018).

Es importante resaltar que a través de procedimientos básicos en el del tiempo se ha desarrollado diagnósticos más rigurosos y específicos, facilitando que se aborden efectivamente los eventos infecciosos reflejando así la importancia de la combinación de técnicas. Teniendo dentro de estas técnicas y procedimientos realizados para el análisis clínico de enfermedades, diversas pruebas microbiológicas, histopatológicas, de bioensayo, uso de anticuerpos, hibridación in situ, inmunohistoquímica y las técnicas moleculares (OIE, 2018).

Dentro del diagnóstico molecular, la importancia es que se tiene un resultado positivo el cual indica que el patógeno está presente en los organismos y nuestros cultivos; ya que a través de estas técnicas se detecta la presencia de ácidos nucleicos del agente infeccioso que se tiene interés en tratar, a su vez es esencial saber que no es necesariamente que exista evidencia clínica de la enfermedad presente en el organismo, permitiendo tener acciones inmediatas encaminadas a que estos de signos clínicos no se expresen, evitando que el agente infeccioso estimule la respuesta del sistema inmune del organismo infectado desencadenando los procesos patológicos.

### **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Entre las técnicas más utilizadas en el país tenemos que esta técnica consiste en que se amplifica una región de ADN específica en este proceso se utiliza primers o cebadores estos

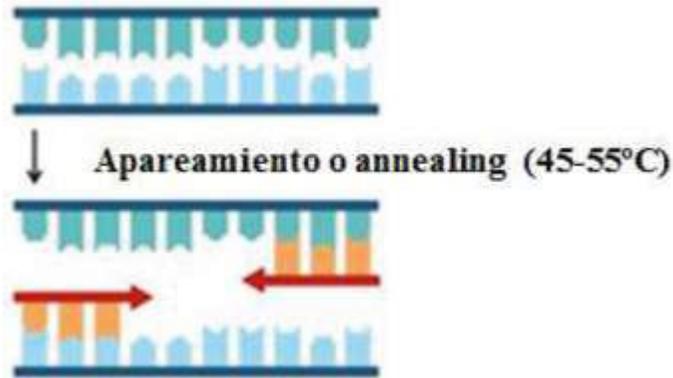
son secuencias de ADN que se delimitan en la zona de amplificación, tienen una longitud de 15-30 nucleótidos, estos son complementarios en las regiones de ADN en la cual se quiere realizar la amplificación, distintas enzimas reaccionan, como ejemplo tenemos la ADN polimerasa la cual incorpora nucleótidos para la síntesis de nuevas cadenas de ADN (Bonett, 2017). Para realizar este proceso una muestra de ADN se coloca en un tubo eppendorf que contiene consigo desoxinucleotidos (dGTP, dCTP, dATP y dTTP), primers, ADN polimerasa termoestable, y por ultimo un cofactor de la enzima que puede ser el magnesio. Luego de que los reactivos necesarios se introducen, se realiza una serie de ciclos de 25 a 40 ciclos, teniendo cambios de temperatura en el proceso ya que estos permiten que se realice la amplificación de la región concreta de ADN de la muestra que se quiere estudiar (Medallo, 2020). El proceso de la PCR conlleva consigo varias fases como:

**Fase de desnaturalización:** en esta fase se da lugar a que los puentes de hidrogeno que están unidos como hebras de ADN se rompan, después de esto se obtiene dos cadenas de ADN que estarán separadas, dichas hebras servirán de molde ya que los primers se unen y se sintetizan en una nueva cadena de ADN complementario, este proceso conlleva una temperatura de 94 a 96 °C (Medallo, 2020).



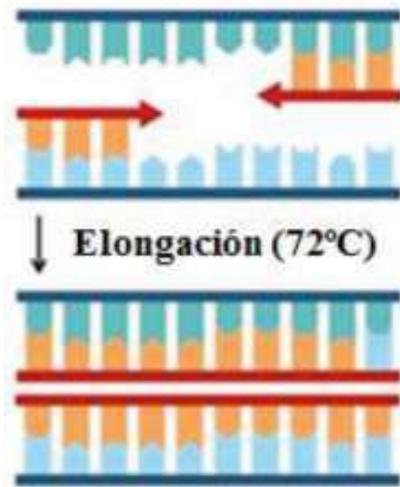
**Figura 3.** Desnaturalización: separación de hebras de ADN. (Medallo, 2020)

**Fase de annealing (apareamiento):** se unen los primers a la secuencia en esta fase ya que ha quedado separada en la anterior fase, la temperatura baja a 45-55 °C, ya que depende de los primers que se utiliza (Medallo, 2020).



**Figura 4.** Fase de annealing. Adaptada (Medallo, 2020).

**Fase de elongación:** una vez que el primer se une a la cadena complementaria de ADN, ya que la ADN polimerasa realiza su función en la que se añade nuevos nucleótidos a la hebra molde de este proceso resulta una molécula que tiene doble cadena de ADN. La temperatura se mantiene en 72 °C, donde actúa la Taq polimerasa, el tiempo que dura este proceso depende de la longitud de la fracción que deseamos amplificar, se genera en un ciclo cada copia que se genera la cual sirve de molde para los ciclos posteriores esta amplificación es exponencial resultando en millones de copias obtenidas de un fragmento en específico (Medallo, 2020).



**Figura 5.** Fase de elongación. (Medallo, 2020)

### PCR en tiempo real o qPCR

En esta variante de la PCR se añaden distintos marcadores fluorescentes a las muestras que tienen el objetivo de saber cuál es la cantidad de ADN inicial a su vez detecta la presencia de distintas variaciones genéticas en la muestra, en cuanto a la emisión de fluorescencia dependerá al número de moléculas producidas por lo tanto esta técnica es cuantitativa. En esta técnica además de los reactivos que se utilizan en la PCR convencional como sondas que son marcadas con enzimas, sustratos antigénicos, radioisótopos, quimioluminiscencia, que tengan capacidad de unión en la cadena que se quiere amplificar. Esta técnica se puede utilizar para identificar virus, bacterias y hongos patógenos en los cultivos de camarón (Medallo, 2020).

Tabla 1.

Comparación PCR convencional y PCR en tiempo real.

PCR convencional	PCR en tiempo real
Detecta un único segmento del ADN	Detecta y cuantifica el ADN
Amplificación y cuantificación del producto	Amplificación y cuantificación en un solo

en dos fases	paso
Menor sensibilidad	Mayor sensibilidad
Menor especificidad	Mayor especificidad
Equipos menos costosos	Equipos y reactivos más costosos (sondas fluorescentes más caras)

---

Fuente: (Medallo, 2020)

En biología molecular existen otras técnicas de diagnóstico que complementan a la PCR, tal como el uso de enzimas de restricción, uso de fragmentos polimórficos de ADN aleatorios que son útiles para el diagnóstico seguro de patógenos y a su vez en el desarrollo de más cebadores o primers. Otras técnicas como LAMP la cual amplifica los ácidos nucleicos a través de un método isotérmico en esta técnica no se utiliza el termociclador de PCR, (Varela-Mejías et al., 2017 ), otras técnicas en el mercado son la hibridación in situ la cual detecta fragmentos de ADN y ARN de los patógenos que se desea identificar llevando a cabo una hibridación del ácido nucleico diana aplicando sondas fluorescentes en los tejidos (Vivanco, 2017); Las sondas de candado molecular formada por dos cadenas de oligonucleótidos que se fijan a la secuencia diana, llevado este proceso y una vez unidas estas se cierran en forma de círculo y se da el reconocimiento de fragmentos específicos, estos pueden contener polimorfismos de un solo nucleótido o fragmentos de ADN de los patógenos aplicando pruebas multiplex. Por último una técnica muy útil en el mercado es el uso de microarrays, esta técnica se enfoca en la detección de varios patógenos siendo más eficiente que la PCR multiplex, llevando a cabo un proceso de marcación de sondas con fluorescencia, resaltando una ventaja adicional de esta técnica es el uso de secuencias de ácidos nucleicos dando como resultado obtener muestras de ADN degradado. (Chakraborty et al. 2019).

## 8. CONCLUSIONES

- En la industria camaronera existen diversas técnicas para determinar la afectación de patógenos en los cultivos de camarón blanco, es de mucha importancia que esta industria se apoye de los avances tecnológicos ya que garantiza que el producto final sea de calidad y sus productores no tengan pérdidas económicas considerables.
- La técnica molecular más utilizada para determinar la incidencia de microorganismos patógenos en los cultivos de camarón blanco en Ecuador, utilizada por los diferentes establecimientos como empresas de distribución de insumos y balanceado, laboratorio de producción de larvas, granjas de engorde de camarón, empacadoras, etc., es la técnica de la reacción en cadena de polimerasa, ya que en cuestión de costos, efectividad en sus resultados es la más recomendable y accesible dentro de la industria.
- En relación a la técnica molecular de PCR, con otras técnicas como secuenciación, hibridación in situ, la diferencia está en el costo y accesibilidad al realizar este tipo de técnicas ya que algunas de estas técnicas se realizan fuera del país, son de mayor costo y demanda una cantidad mayor de reactivos.
- El uso de técnicas moleculares en nuestro país es esencial ya que al pasar de los años hemos tenido resultados satisfactorios como mayor resistencia de las larvas a microorganismos, una mejor genética que garantiza al productor una mejor rentabilidad económica, de igual manera una identificación de microorganismos patógenos exacta para combatir y aplicar herramientas de prevención en los cultivos.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Angarita, M. (2017). Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*, 796-807.
- Aldecoa, J. (2017). *AQUAHOY*. Obtenido de Desarrollan cultivo hiperintensivo de camarón:<https://www.aquahoy.com/i-d-i/sistemas-de-cultivo/29674-desarrollan-cultivohiperintensivo-de-camaron>
- Alvarez, A. (2019). *Inducción de la respuesta inmune en embriones de camarón blanco Litopenaeus vannamei*. Obtenido de <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/26313>
- Bonett, B. (2017). *Caracterización genética de líneas de reproductores de camarón blanco Penaeus (Litopenaeus) vannamei en cultivo*. Obtenido de <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/1876>
- Bolivar, A. (2014). PCR y PCR-Múltiple parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avances en Biomedicina*, 25-33.
- Campa, A. (2017). Uso profiláctico de aditivos inmunoestimulantes en el cultivo del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. *Cibnor*, 541-559.
- Cobo, R. (2018). Aspectos generales del cultivo y la genética del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 18-23.
- Chakraborty T, Mohapatra S, Wanglar C, Pandey D. 2019. Applied molecular cloning: present and future for aquaculture. In: Nagpal M, Boldura O, Balta C (eds). *Synthetic biology: new interdisciplinary science*. Intech Open. p. 312-325
- Franco, M. (2013). Características, ventajas y desventajas. *Revista de Medicina Veterinaria*, 63-68.
- Medallo, M. (2020). Enfermedades infecciosas. *Revista para profesionales de la salud*, 88-111.
- Moreno, N. (2021). Interacción genotipo por ambiente en camarón blanco asociada a Síndrome de Mancha Blanca. *Abanico Veterinario*, 1-16.
- OIE. (2018). [www.oie.int](http://www.oie.int). Recuperado el Agosto de 2019, de [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/aahc/current/chapitre\\_control\\_hazard\\_feed.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahc/current/chapitre_control_hazard_feed.pdf)
- Paucar, R. (2018). Enfermedades, tratamientos y recomendaciones en el cultivo del camarón. *Espirales revista multidisciplinaria de investigación*, 93-107.
- Saavedra-Olivos K. 2018. Detección de una proteína asociada a la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) en *Litopenaeus vannamei* bajo cultivo semiintensivo en Ecuador. *Rev Inv Vet Perú* 29: 328-338. doi: 10.15381/rivep.v29i1.14194
- Tellez, N. (2015). Presencia de ihhmv en unidades productivas de camarón blanco (*Penaeus*

- vannamei* Boone) del golfo de México. *Presence of ihhmv in white shrimp (Penaeus vannamei Boone) productive units in the gulf of Mexico.*, 10-14.
- Varela, A. (2020). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 1-16.
- Varela-Mejías, Alexander, & Peña-Navarro, Nelson, & Aranguren-Caro, Luis Fernando (2017). Necrosis aguda del hepatopáncreas: una revisión de la enfermedad en *Penaeus vannamei*. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3),735-745.
- Vivanco, Y. (2017). *Evaluación de la variabilidad genética con marcadores moleculares tipo microsatélites en reproductores de camarón Litopenaeus vannamei En un sistema cerrado de producción*". Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/23789>
- Yoshinaga T. (2019). The history of aquatic animal disease emergence and spread. In: OIE Global Conference on Aquatic Animal Health. World Organisation for Animal Health, Santiago, Chile (abril 2019).