



CENAIM - ESPOL

CENTRO NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES MARINAS  
"FIDELAR ARTELLANO M."

"Efecto de la proteína de choque térmico (HSP70) sobre la susceptibilidad del camarón *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* al WSSV y sobre la capacidad de los hemocitos para tolerar condiciones de estrés"

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

BIÓLOGO MARINO

Presentada por:

ROSA ELENA SANTANDER BERMEO

Santa Elena - Ecuador

2009

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación ha sido establecer si la expresión de HSP70 en camarón blanco *Penaeus vannamei*, determinada mediante Western blot durante una situación de estrés generada por hipertermia (32 - 33°C), ha estado asociada con la conservación de la capacidad inmunitaria de los hemocitos (generación de anión superóxido ( $O_2^-$ ), actividad Fenoloxidasa (PO) y concentración de proteínas plasmáticas) y con la resistencia a WSSV bajo condición de hipertermia.

La hipótesis de trabajo propuso que la menor letalidad al WSSV observada en camarón *P. vannamei* expuesto a hipertermia era ~~relacionada con la expresión de la proteína de estrés térmico~~ relacionada con la expresión de la proteína de estrés térmico HSP70.

Esta investigación constó de 3 bioensayos. Los dos primeros fueron tipo prueba de desafío con WSSV en *P. vannamei*. En el primer bioensayo se observó que los camarones pre-expuestos a hipertermia mostraron descensos del NTH con respecto a los valores obtenidos a las 0 h (29°C), lo cual sugiere que la hipertermia afecta negativamente a la concentración de hemocitos. Por otro lado, los camarones expuestos a hipertermia (T2) mostraron los más altos valores de superóxido ( $O_2^-$ ) ( $P < 0.05$ ) y una concentración inferior de proteínas plasmáticas. Tales resultados indican que la hipertermia tiene un efecto positivo sobre la generación de anión superóxido y que produce un descenso de la concentración de proteínas plasmáticas en el hospedero.

Complementariamente, en el segundo bioensayo se estudió el efecto de la temperatura sobre la prevalencia de WSSV, encontrando que a 33°C se detectó el mayor número de camarones que expresaron proteínas HSP70. Tal expresión estuvo asociada de forma directa con los casos positivos para WSSV, es decir, los camarones sometidos previamente a hipertermia serían más susceptibles a la infección con WSSV (mayor prevalencia), mientras que la virulencia, es decir, la capacidad del virus para hacer daño o matar, es muy baja.

En el tercer bioensayo se realizó el estudio del efecto de la hipertermia sobre la concentración de proteínas hemocitarias y la síntesis de HSP70, determinándose mediante análisis de ELISA para HSP70 en camarones sometidos a tres temperaturas (31, 33 y 29°C), una mayor concentración de proteína HSP70 a 33°C, en tanto la

concentración de proteínas celulares fue mayor a 31°C que a 33°C. Los resultados de la prueba *in vitro* mostraron que a 31°C no sólo menos camarones expresan HSP70, sino que el nivel de expresión también fue el más bajo, en tanto la concentración de proteínas celulares fue mayor que a 33°C. En base a estas observaciones se podría afirmar que 31°C es una temperatura de menor estrés para *P. vannamei*, caracterizada por una mayor eficiencia en la síntesis de proteínas.

Finalmente, este estudio muestra que bajo condiciones de hipertermia, la expresión de HSP70 está directamente relacionada con la prevalencia de WSSV en *P. vannamei*, reforzando el concepto de la utilidad de esta proteína como marcador de estrés en camarón.