

Estimación de parámetros genéticos de caracteres de resistencia a la enfermedad Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) causada por *Vibrio parahaemolyticus* y el crecimiento en una población de *Penaeus vannamei*

M. Martínez Soler¹, H.S. Shin¹, A. Lorenzo-Felipe¹, M.J. Zamorano Serrano¹, P.L. Castro¹, L.C. Pachón Mesa², J.A. Rodríguez³, C. Domínguez Bordor³, S. Sonnenholzner³, R. Carvalheiro⁴, W. Mekkawy⁴, L. Fernando Aranguren⁵, E. Reyes Abad⁵, J.M. Alfonso López^{1*}

¹ Aquaculture Research Group (GIA), Instituto de Acuicultura Sostenible y Ecosistemas Marinos (IU-ECOQUA), Universidad de las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), Telde, Spain.

² Biotecnología y Genética Marina S.A. (BIOGEMAR), Mar Bravo, Salinas, Santa Elena, Ecuador.

³ Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Guayaquil, Ecuador.

⁴ CSIRO Agriculture and Food, Livestock & Aquaculture, Hobart, TAS 700, Australia.

⁵ PRODUMAR, Tambo, Durán, Ecuador.

* Corresponding autor: juanmanuel.afonso@ulpgc.es

Resumen

La enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) causada por la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*, es una de las principales causas de pérdidas económicas en el sector acuícola del langostino blanco (*Penaeus vannamei*). A pesar de que en Ecuador la enfermedad no causa las elevadas mortalidades reportadas en Asia, encontrar animales resistentes a la enfermedad es un reto para los acuicultores, de cara a mantener los elevados niveles productivos en el país. El crecimiento es el objetivo más utilizado en los programas de mejora genética de la especie, por ello es importante estimar, por primera vez, las heredabilidades y correlaciones genéticas de la resistencia a AHPND y su relación con los caracteres de crecimiento. Para alcanzar este propósito se realizaron dos experimentos de infección con 3.345 individuos pertenecientes al programa de mejora genética PMG-BIOGEMAR[®]. Previamente a los experimentos se midió el peso y la longitud y se marcaron individualmente con VIE, durante el experimento se midió la supervivencia, y posteriormente, se midió el peso, la longitud, la supervivencia y el nivel de infección. Los parámetros genéticos de las variables mencionadas fueron estimados mediante modelo lineal y modelo umbral. Las heredabilidades obtenidas fueron medias para el crecimiento y muy bajas para el nivel de infección. En cuanto a la supervivencia la heredabilidad fue muy baja para el modelo lineal (0,04) y moderada para el modelo umbral (0,22-0,26). La correlación genética entre la resistencia a AHPND y el crecimiento en la especie es positiva. Esta correlación permite un efecto positivo sobre la resistencia a la enfermedad cuando se selecciona para el crecimiento en los programas de mejora genética, generando así animales más tolerantes a la enfermedad.

Keywords: Vibrio parahaemolyticus, AHPND, susceptibility, heritability, Penaeus vannamei

Introducción

P. vannamei es la especie animal más producida de la acuicultura mundial, siendo Ecuador líder en producción y exportación de la especie. A pesar de la alta presencia de patógenos en sus estuarios industriales, la producción no ha dejado de crecer, alcanzando en 2023 los 1,2 millones de toneladas (CNA-ECUADOR). Aunque *V. parahaemolyticus* no causa en Sudamérica las elevadas mortalidades que causa en Asia, es importante el desarrollo de líneas resistentes o tolerantes que permitan la disminución de las pérdidas económicas causadas por la enfermedad. El objetivo del presente trabajo es la estimación de los parámetros genéticos de caracteres de resistencia a AHPND en una población de langostino blanco de Ecuador seleccionada durante cuatro generaciones para el crecimiento y su relación con estos caracteres.

Material y métodos

El programa de mejora genética PMG-BIOGEMAR[®], desarrollado entre la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (Las Palmas de Gran Canaria, España) y el Grupo Almar (Guayaquil, Ecuador) ha permitido la selección para el peso de cuatro generaciones de reproductores de *P. vannamei* mediante el método “*Optimal Contribution Selection (OCS)*” (Meuwissen, 1997). Con el objetivo de estimar los parámetros genéticos de resistencia a AHPND, 3.345 individuos, pertenecientes a la quinta generación del programa, fueron enviados desde la empresa BIOGEMAR S.A. al centro de investigaciones marinas CENAIME-ESPOL (Santa Elena, Ecuador), a la talla de ~0.5 gramos. En el centro, tras el periodo de aclimatación, se realizaron dos experimentos de infección, una primera prueba (Test-1) con 2×10^5 CFU/ml e infección mediante inmersión (2.250 langostinos retados de 0,80 gr aproximadamente); y una segunda prueba (Test-2) con 2×10^8 CFU/gr e infección mediante el alimento (882 animales retados de 4 gr aproximadamente). Antes de la primera prueba de infección se midió el peso y la longitud de cada animal y se marcaron individualmente mediante el sistema VIE. Posteriormente, se volvió a medir el peso y la longitud y se extrajo un pleópodo. Se realizó la extracción de ADN de cada pleópodo (conteniendo intestino) para identificar genéticamente a cada individuo, y medir el nivel de infección mediante análisis de *qPCR* para las toxinas *pirA* y *pirB* de la bacteria *V. parahaemolyticus*. Las heredabilidades y correlaciones genéticas para los caracteres mencionados se estimaron mediante dos metodologías genético-estadísticas: modelo lineal (método de Máxima Verosimilitud Restringida) con el software VCE (v6.0) y modelo umbral (muestreo de Gibbs) con el software GIBBS2F90.

Resultados y discusión

Tras finalizar la primera prueba (Test-1) se recolectaron 2.210 animales de los tanques de infección, de los cuales 2.090 sobrevivieron y 120 no sobrevivieron. Un 86,24% de todos los animales fueron asignados a dos padres pertenecientes a 155 familias del PMG-BIOGEMAR[®]. En cuanto a la segunda prueba (Test-2), 405 animales fueron recolectados como supervivientes y 455 como no supervivientes, en este caso, un 47,21% fueron asignados a 147 familias pertenecientes al programa.

En las Tablas 1 y 2 se muestran las heredabilidades obtenidas con ambas metodologías (lineal y umbral, respectivamente) para los caracteres de crecimiento en el Test-1, que fueron similares (0,15 – 0,25), y sus correlaciones genéticas que fueron robustas ($> 0,93$). En lo que respecta a la supervivencia, para esta primera prueba, los resultados variaron con respecto a las dos metodologías, siendo la heredabilidad de 0,04 para el método lineal (Tabla 1) y 0,22 para el método umbral (Tabla 2). Estos resultados están en consonancia con lo obtenido por otros autores (Castillo-Juárez *et al.*, 2018; Campos-Montes *et al.*, 2020; Lyu *et al.*, 2020). Las correlaciones genéticas entre la supervivencia y los caracteres de crecimiento son altas y positivas (0,55 – 0,99). En cuanto a los niveles de infección, las heredabilidades fueron bajas (0,01 – 0,05).

Para el Test-2, las heredabilidades de los caracteres de crecimiento fueron medias (0,24 – 0,31) y su correlación genética fue muy elevada (0,98). En este caso, la heredabilidad para la supervivencia obtenida mediante el método umbral fue también media 0,26. Las heredabilidades de los niveles de infección bajas (0,04 y 0,09, para los niveles de Ct_{pirA} y Ct_{pirB} , respectivamente), mientras que las correlaciones genéticas con los caracteres de crecimiento fueron altas y positivas ($> 0,40$).

Tabla 1: Heredabilidades (diagonal), correlaciones fenotípicas (debajo de la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) obtenidas mediante modelo lineal para caracteres de crecimiento, supervivencia y niveles de infección en *Penaeus vannamei* bajo infección de *V. parahaemolyticus* mediante inmersión (Test-1) (media \pm error estándar).

	LI	LF	WI	WF	SUR	CT PIRA	CT PIRB
LI	0.15 \pm 0.04	0.93 \pm 0.04	0.97 \pm 0.02	0.96 \pm 0.04	0.95 \pm 0.22	0.78 \pm 0.31	0.46 \pm 0.28
LF	0.72	0.23 \pm 0.04	0.94 \pm 0.03	0.99 \pm 0.01	0.88 \pm 0.16	0.43 \pm 0.58	0.21 \pm 0.25
WI	0.85	0.76	0.22 \pm 0.05	0.95 \pm 0.03	0.75 \pm 0.47	0.45 \pm 0.34	0.28 \pm 0.26
WF	0.73	0.87	0.83	0.23 \pm 0.04	0.99 \pm 0.03	0.30 \pm 0.48	0.21 \pm 0.24
SUR	0.03	0.06	0.04	0.04	0.04 \pm 0.03	-0.56 \pm 0.80	-0.46 \pm 0.52
CT PIRA	0.09	0.05	0.06	0.08	0.1	0.01 \pm 0.01	1.00 \pm 0.00
CT PIRB	0.11	0.08	0.08	0.09	0.11	0.71	0.03 \pm 0.02

Longitud inicial (LI); Longitud final (LF); Peso inicial (WI), Peso final (WF), Supervivencia (SUR) y niveles de infección: Ct pirA y Ct pirB

Tabla 2: Heredabilidades (diagonal), correlaciones fenotípicas (debajo de la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) obtenidas mediante modelo umbral para caracteres de crecimiento, supervivencia y niveles de infección en *Penaeus vannamei* bajo infección de *V. parahaemolyticus* mediante inmersión (Test-1) (media \pm error estándar).

	LI	LF	WI	WF	SUR	CT PIRA	CT PIRB
LI	0.16 \pm 0.00	0.96 \pm 0.02	0.97 \pm 0.00	0.95 \pm 0.01	0.72 \pm 0.08	0.42 \pm 0.11	0.26 \pm 0.04
LF		0.22 \pm 0.00	0.95 \pm 0.00	0.99 \pm 0.00	0.55 \pm 0.05	0.22 \pm 0.14	0.04 \pm 0.04
WI			0.24 \pm 0.00	0.95 \pm 0.00	0.57 \pm 0.10	0.29 \pm 0.12	0.03 \pm 0.02
WF				0.25 \pm 0.00	0.55 \pm 0.03	0.05 \pm 0.07	0.06 \pm 0.03
SUR					0.22 \pm 0.03	-0.00 \pm 0.18	-0.02 \pm 0.10
CT PIRA						0.02 \pm 0.00	0.95 \pm 0.03
CT PIRB							0.05 \pm 0.00

Longitud inicial (LI); Longitud final (LF); Peso inicial (WI), Peso final (WF), Supervivencia (SUR) y niveles de infección: Ct pirA y Ct pirB

Conclusión

Las correlaciones genéticas medias-altas y positivas obtenidas entre los caracteres de resistencia a AHPND y crecimiento en una población industrial ecuatoriana de langostino blanco (*P. vannamei*), indican que la selección genética directa para el crecimiento podría reducir la susceptibilidad o aumentar la tolerancia a la enfermedad en la especie.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la empresa BIOGEMAR S.A. perteneciente al Grupo Almar (Guayaquil, Ecuador)

Referencias

Castillo-Juárez Castillo-Juárez. H., Montaldo H.H., Campos-Montes. G.R., J.C. Quintana-Casares. S.A. Soto-Rodríguez. Betancourt-Lozano. M., Martínez-Ortega. A., Lozano-Olvera. R., Gómez-Gil. B., Caballero-Zamora. Gallaga-Maldonado. E.P., 2018. Heritability. Genetic Line and Inbreeding Effects on Resistance of Whiteleg Shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 to Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Mexico. Asian Fisheries Science 88-101. • Campos-Montes, G., Caballero-Zamora, A., Montaldo, H.H., Montoya-Rodríguez, L., Gómez-Gil B., Soto-Rodríguez S.A., Martínez-Ortega, A., Quintana-Casares, J.C., Castillo-Juárez, H., 2020. Genetic (co)variation in resistance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and white spot syndrome virus (WSSV) in challenge test. Aquaculture 520, 734994. • CNA, 2022. CÁMARA NACIONAL DE AQUACULTURA.<https://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>.• Meuwissen. T.H.E. Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding. J. Anim. Sci 75: 934-40. • Lyu, D., Yu, Y. Zhang, Q., Luo, Z., Wang, Q., Xiang, J., Li, F., 2020. Estimating genetic parameters for resistance to *Vibrio parahaemolyticus* with molecular markers in Pacific white shrimp. Aquaculture 527, 735439.