



Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2022; 12:1-21. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.2>
Artigo Original. Recebido:12/09/2021. Aceito:15/01/2021. Publicado: 30/01/2022. Chave: e2021-63.
<https://www.youtube.com/watch?v=h1b7ihNp0Tw>

Aumento da sobrevivência do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) infectado pelo vírus da mancha branca e alimentado com uma dieta suplementada com óleo de coco (*Cocos nucifera*)

Increase in the survival of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with white spot virus and fed a diet supplemented with coconut (*Cocos nucifera*) oil

Hernández-Sandoval Pedro^{3ID}, Timaná-Morales María^{1,2ID}, Robles-Ravelero Maricruz^{2ID}, Peraza-Gómez Viridiana^{1,2*ID}, Ascencio Felipe^{4ID}, Jiménez-Ruiz Edgar^{1,5ID}

¹Programa de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México. ²Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit, San Blas, Nayarit, México. ³Unidad Regional Los Mochis de la Universidad Autónoma de Occidente, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Los Mochis, Sinaloa, México. ⁴Programa de Acuicultura, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, BCS, México. ⁵Unidad de Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Nayarit, México. *Autor responsable e autor para correspondência: Viridiana Peraza-Gómez, Laboratorio de Biotecnología Molecular Experimental, Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit. Bahía Matanchén, Carretera Los Cocos Km 12. C.P. 63740, San Blas, Nayarit, México. E-mail: pedro.hernandez@uadeo.mx; mafe280901@gmail.com; maricruz_ro@hotmail.com; viridiana.peraza@uan.edu.mx; ascencio@cibnor.mx; edgar.jimenez@uan.edu.mx

RESUMO

O óleo de coco (*Cocos nucifera*) é considerado uma substância imunoestimulante natural contendo compostos bioativos com a capacidade de regular ou modificar a resposta imunológica e aumentar a resistência contra patógenos. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o óleo de *C. nucifera* suplementado na dieta como um potencial antiviral para reduzir a mortalidade causada pelo vírus da mancha branca (WSSV) na cultura do camarão *Litopenaeus vannamei*. Dois bioensaios foram realizados com camarões juvenis: o primeiro (20 dias) consistiu em I) alimentação comercial (AC); II) AC + 2,5% óleo de coco extra virgem (OCEV); III) AC + 5% OCEV e o segundo bioensaio (27 dias) com I) AC + WSSV; II) AC + 2,5% OCEV + WSSV; III) AC e IV) AC + 2,5% OCEV. No final, taxa de crescimento específico (TCE), sobrevivência, contagem total de hemócitos (CTH) e somente no bioensaio II foi determinada a prevalência do WSSV. Os resultados do TCE, CTH para ambos os bioensaios não mostraram diferenças significativas entre tratamentos, assim como a sobrevivência no bioensaio I. Entretanto, houve diferenças significativas entre tratamentos e sobrevivência no bioensaio II. Entretanto, houve diferenças significativas na sobrevivência no bioensaio II ($p = 0,0030$) entre o tratamento I (83,3%) e os demais tratamentos que apresentaram maiores sobreviventes. Conclui-se que os resultados da prevalência de WSSV no bioensaio II mostraram que a adição de 2,5% de OCEV na ração teve um efeito na diminuição da prevalência e carga viral de WSSV em jovens *L. vannamei*, entretanto, estes resultados não mostraram diferenças significativas com o resto dos tratamentos, não mostraram efeitos negativos em termos de sobrevivência e TCE, nem houve um efeito no CTH entre os tratamentos de ambos os bioensaios.

Palavras-chave: *Coccus nuciferae*, *Litopenaeus vannamei*, ácidos graxos, WSSV, imunoestimulantes, atividade antiviral.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antiviral potential of coconut (*Cocos nucifera*) oil supplemented in the diet of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to reduce the mortality caused by the white spot



syndrome virus (WSSV) under shrimp culture. Two bioassays were conducted for shrimp juveniles. The first bioassay (20 days) consisted of supplying the following feeds: I) commercial feed (CF); II) CF + 2.5% of extra virgin coconut oil (EVCO); III) CF + 5% EVCO and the second bioassay (27 days), the following feeds were supplied: I) CF + WSSV; II) CF + 2.5% EVCO + WSSV; III) CF; IV) CF + 2.5% EVCO. Specific growth rate (EGR), survival, and total hemocyte count (THC) were determined in both bioassays. The prevalence of WSSV was only determined for the second bioassay. The results of EGR, THC and prevalence of WSSV indicate that there were no significant differences among treatments in both bioassays nor in survival during the first bioassay. However, in the second bioassay, differences were found ($p = 0.0030$) between I (83.3%) and the rest of treatments, which showed higher survival values. We conclude that the supplementation of 2.5-5.0% of EVCO in shrimp feed promoted a decrease in the prevalence and viral load of WSSV in juveniles of *L. vannamei*. In addition, this supplement did not show negative effects in survival and EGR. Finally, no immunosuppression or reduction of the immune response of THC was detected among treatments in both bioassays.

Keywords: *Cocos nucifera*, *Litopenaeus vannamei*, fatty acids, WSSV, immunostimulants, antiviral activity.

INTRODUÇÃO

A criação de camarão nos países em desenvolvimento contribui para o seu crescimento económico e fornece fontes de emprego (Patil *et al.*, 2021); dentro desta actividade, a produção de camarão *L. vannamei* a nível mundial (4,966241 t) excede a de outros camarões penaeídeos (154,615 t) (FAO, 2018), contudo, as doenças infecciosas e as diferentes condições ambientais têm colocado um desafio contínuo na criação de camarão de qualquer espécie (FAO, 2018), gerando grandes perdas económicas e instabilidade na indústria da criação de camarão (Varela *et al.*, 2017).

As doenças virais são as mais difíceis de controlar devido ao seu grande poder de disseminação, às suas múltiplas vias de infecção e ao vasto espectro tanto de hospedeiros selvagens como de criação (Wang *et al.*, 1997). O vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) é um dos mais patogénicos vírus do camarão que infectam uma vasta gama de crustáceos decápodes em todo o mundo; alguns destes têm o papel de vectores ou reservatórios (Flegel & Alday, 1998; OIE, 2019). Este vírus pode também causar mortalidades maciças que podem atingir 100% dos casos durante um período de três a dez dias após os primeiros sinais clínicos da doença (Marks, 2005).

Apesar dos tratamentos para a gestão e controlo da doença e mortalidade causada pela presença da WSSV, a única alternativa eficaz até agora na produção de camarão é a implementação de práticas de biossegurança ou exclusão, tais como a filtração e desinfecção (Esparza-Leal *et al.*, 2009). Contudo, a investigação científica está actualmente centrada na melhoria das práticas de gestão e na redução das condições de stress através da avaliação e desenvolvimento de aditivos imunoestimulantes, que se tornaram uma estratégia nova e promissora para estabelecer a base de resistência e medidas profiláticas para *L. vannamei* contra agentes patogénicos (Barracco *et al.*, 2014).

As substâncias imunoestimulantes são obtidas através de fontes naturais e também por síntese química baseada na estrutura molecular dos produtos naturais, estas substâncias têm a capacidade de regular ou modificar a resposta imunológica; por conseguinte, são também conhecidas como imunomoduladores ou imunopotenciadores, e podem ser definidas como um componente natural que regula o sistema imunitário e aumenta a resistência do hospedeiro contra doenças causadas por agentes patogénicos (Bricknell & Dalmo, 2005).



Niu *et al.* (2018) mencionam que a utilização de *Porphyra haitanensis* macroalgae (2,51 e 3,14%) como suplemento na alimentação aquática melhora a resposta imunitária de *L. vannamei*, aumentando a resistência contra vírus e bactérias, gerando uma melhoria na função intestinal e resistência ao stress oxidativo.

DebMandal & Mandal (2011) analisam os compostos bioativos de *C. nucifera* na medicina tradicional indiana para a promoção da saúde e prevenção da doença. Entre estes compostos bioativos no coco encontram-se principalmente ácidos gordos de cadeia média, tais como ácidos láurico, mirístico e palmítico, compostos fenólicos e vitamina E (Montoya, 2021). Dado o impacto negativo da síndrome da mancha branca na criação de camarão, salienta-se que o coco pode ter actividade antiviral, antibacteriana e antiparasitária e tem também um efeito imuno-estimulador em vários modelos animais, incluindo um potencial efeito antiviral contra a SRA-CoV-2 (DebMandal & Mandal, 2011; Elsbaey *et al.*, 2021; Angeles-Agdeppa *et al.*, 2021).

No presente trabalho, foi avaliado o óleo de coco (*C. nucifera*), suplementado na dieta com potencial antiviral para reduzir a mortalidade causada pelo vírus da mancha branca na cultura do camarão branco *L. vannamei*.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas. Este estudo cumpre a Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificações técnicas para a produção, cuidados e utilização de animais de laboratório. *L. vannamei* não é considerada uma espécie ameaçada ou protegida.

Aclimação do camarão às condições de cultura. Para os bioensaios, foram recolhidos camarões presumivelmente saudáveis de explorações aquícolas em San Blas, Nayarit, e imediatamente transportados para o Laboratório de Biotecnologia Molecular Experimental (LABME) da Escola Nacional de Engenharia Pesqueira (ENIP) em recipientes plásticos de 100 L, com água dos tanques de cultura e aeração ($\bar{X} = 5,4 \pm 0,12$ mg/L). A aclimação do camarão às condições de cultura foi realizada durante 48 h, ajustando a salinidade 2 ‰/h até atingir 35 ‰. Foi utilizado um tanque de plástico com uma capacidade de 1000 L contendo 800 L de água do mar filtrada (20 μ m); os organismos foram mantidos com arejamento contínuo e por sua vez foram alimentados com uma ração diária correspondente a 5% da sua biomassa total duas vezes por dia 08:00 e 17:00 h com ração comercial (AC, 35% de proteína).

Preparação das dietas experimentais com óleo de coco (*C. nucifera*): O OCEV utilizado para a preparação das dietas experimentais foi submetido a uma análise do perfil dos ácidos gordos, de acordo com o método proposto pela AOAC (2012). Para a inclusão de óleo de coco extra virgem (prensado a frio), a AC foi pulverizada num processador de alimentos (Oster® modelo FPSTFP1355); a AC foi misturada com óleo de coco (OCEV) a 2,5% e 5% por 0,5 kg⁻¹ de ração. Após a mistura, adicionou-se uma solução de grenetina (4%) em 180 mL de água destilada para formar uma pasta. O pellet foi feito a partir da pasta resultante utilizando um moedor de carne (Torrey modelo 22), equipado com um molde de 3/32" (3 mm). Os pellets formados foram colocados em bandejas para



desidratação e secagem à temperatura ambiente durante 24 h; a ração foi então armazenada a 4 °C.

Análise proximal das dietas experimentais. Foi realizada uma análise proximal de AC e CA com 2,5% de OCEV e AC com 5% de OCEV. As análises realizadas foram humidade pelo método NMX-F-083-1986, cinzas pelo método NMX-F-607-NORMEX-2013, lípidos (extracto etéreo) pelo método [NOM-086-SSA1-1994](#) (apêndice normativo C, numeral 1), proteínas (NX6). 25) com o método NMX-F-608-NORMEX-2011, fibra bruta com o método NMX-F-613-NORMEX-2017 e hidratos de carbono totais com o método [NOM-051-SCFI/SSA1-2010](#) (por diferença de análise próxima).

Inóculo viral WSSV e a sua detecção molecular por PCR. O inóculo viral da WSSV (251018) foi doado pelo Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR IPN Unidad Sinaloa), antes da sua utilização foi analisado com PCR simples e testado ([Kimura et al., 1996](#)). A detecção de WSSV no inóculo e organismos foi realizada por PCR de ponto final em duas fases; primeiro as amostras foram analisadas com PCR simples, e as que eram negativas foram analisadas por PCR aninhada com os oligonucleótidos propostos por [Kimura et al. \(1996\)](#).

Análise da prevalência de WSSV. A prevalência foi determinada de acordo com a percentagem de organismos doentes e/ou infectados com WSSV entre o número de organismos analisados de acordo com [Margolis et al. \(1982\)](#).

Recolha de hemolinfa e contagem total de hemócitos (CTH). A extracção da hemolinfa foi realizada antes da primeira ração alimentar (7:00-8:00 da manhã), para evitar diferenças no ciclo circadiano; a hemolinfa foi obtida com uma seringa esterilizada (1 mL) na artéria abdominal ventral ([Fisher et al., 1995](#)). A seringa foi pré-carregada com 200 µL de solução anticoagulante isotónica SIC-EDTA (450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM EDTA-Na₂, 10 mM HEPES, pH 7,3 e 850 mOsm kg⁻¹) pré-arrefecida (4 °C) para camarão ([Vargas-Albores et al., 1993](#)) e colocada em tubos esterilizados de 1,5 mL sobre gelo. 50 µL da diluição 2:1 de SIC-EDTA-hemolymph foram tomados e misturados com 150 µL (1:3 v/v) de solução de formaldeído pré-arrefecida a 4 % para fixar os hemócitos. A partir desta diluição, foram feitas contagens individuais utilizando uma câmara Neubauer com um retículo de 0,01 mm sob um microscópio binocular (Leica DM300). A resposta imunitária do camarão foi avaliada pela contagem total de hemócitos de acordo com [Cabrera-Pérez et al. \(2019\)](#):

$$(CTH) \text{ (células/mL)} = (Hc * D * C) / 0.4,$$

Onde: Hc é o número total de hemócitos contados; D é o factor de diluição da hemolinfa e C é o factor de conversão x 0,1 mm³ x mL (1000).



Bioensaio I. Avaliação da concentração de óleo de *C. nucifera* como um imunoestimulante. A duração deste bioensaio foi de 20 dias; foi realizado em tanques de plástico com uma capacidade de 200 L, contendo 180 L de água do mar (35 ‰) filtrada (20 µm) e aeração constante. O bioensaio consistiu em três tratamentos cada um em triplicado (30 camarões por tanque com um peso inicial médio de $5,46 \pm 0,19$ g): I) controlo AC; II) AC + 2,5 % OCEV; III) AC + 5 % OCEV. Os organismos experimentais eram alimentados duas vezes por dia (8:00 a.m. e 17:00 p.m.). Durante o bioensaio, as variáveis físico-químicas foram monitorizadas duas vezes por dia: pH foi medido com um potenciômetro Hanna HI98130, salinidade com um refractômetro ATAGO modelo 2491, temperatura e oxigênio dissolvido com um multiparametro YSI pro20i.

O amónio, nitrito e nitrato foram determinados a cada 10 dias com um fotómetro YSI 9500. No final de cada bioensaio, a sobrevivência era determinada utilizando a equação: La determinación de amonio, nitritos y nitratos se realizó cada 10 días con un fotómetro YSI 9500. Al final de cada bioensayo se determinó la supervivencia mediante la ecuación:

$$S = (N^{\circ} \text{ ind } f / N^{\circ} \text{ ind. } i) * 100$$

Onde $N^{\circ} \text{ ind } f$ é o número de indivíduos vivos no final do bioensaio e $N^{\circ} \text{ ind } i$ é o número de indivíduos vivos no início do bioensaio (Escobar-Gil *et al.*, 2017). A taxa de crescimento específico (TCE) foi determinada usando a equação:

$$\text{TCE (\%dia} - 1) = [100 * (\text{Ln}W2 - \text{Ln}W1)]t$$

Onde: $W2$ é o peso final, $W1$ é o peso inicial e t é o número de dias de cultura (Ziaei-Nejad *et al.*, 2006).

A resposta imunitária do camarão foi avaliada pela contagem total de hemócitos descrita por Cabrera-Pérez *et al.* (2019). Foram analisados individualmente (27) organismos no CTH, 9 organismos por tratamento representando 30% da população total de cada tratamento.

Bioensaio II. Avaliação da actividade antiviral do óleo de coco suplementado na dieta de *L. vannamei* infectado com WSSV. A duração do bioensaio foi de 27 dias, onde no dia 23 o camarão foi infectado com o inóculo WSSV. Foi realizado em aquários com uma capacidade de 80 L, que foram enchidos com 50 L de água do mar filtrada (35 ‰) (20 µm). O bioensaio consistiu em quatro tratamentos, cada um em triplicado (10 camarões por aquário com um peso médio de $7,7 \pm 0,25$ g): I) AC + WSSV; II) AC + 2,5 % OCEV + WSSV; III) controlo AC; IV) controlo AC + 2,5 % OCEV. Os organismos experimentais eram alimentados duas vezes por dia (8:00 a.m. e 17:00 p.m.). Durante o bioensaio, as variáveis físico-químicas foram monitorizadas duas vezes por dia, da mesma forma que no teste bienal I.

No final de cada bioensaio, a sobrevivência foi determinada de acordo com Escobar-Gil *et al.* (2017) e TCE de acordo com Ziaei-Nejad *et al.* (2006). Antes da infecção, foi realizada uma análise inicial da prevalência de WSSV do camarão da exploração e foi 100% (determinada por PCR aninhada). No dia 23, o camarão nos tratamentos I e II foi reinfestado com 10 µL de inóculo de camarão previamente infectado com WSSV



injectado na parte dorsal do segundo segmento abdominal com uma seringa de insulina de 0,3 MI; além disso, os organismos destes tratamentos (I e II) foram alimentados com pasta de camarão infectada com WSSV.

A prevalência do WSSV no camarão foi quantificada como descrito anteriormente ([Margolis et al., 1982](#)). Para determinar a prevalência do WSSV, os camarões infectados foram mantidos sob observação até apresentarem sinais óbvios de doença da mancha branca. Trinta organismos por tratamento foram testados individualmente; além disso, organismos moribundos foram recolhidos e sacrificados pela presença de WSSV com PCR única e aninhada; foram armazenados a -80 °C. A resposta imunitária do camarão foi também avaliada pela contagem total de hemócitos ([Cabrera-Pérez et al., 2019](#)). Três organismos por réplica foram analisados individualmente para CTH, 9 organismos por tratamento representando 30 % da população total de cada tratamento.

Análises estatísticas. Um teste de normalidade (Kolmogorov Smirnov) e homoscedasticidade (Bartlett), análise de variância unidireccional (ANOVA) e o teste de comparações múltiplas (HSD) de Tukey foram realizados para identificar a natureza destas diferenças em sobrevivência, taxa de crescimento específico, contagem total de hemócitos e prevalência de WSSV; utilizando o software STATISTICA Versão 6 ([StatSoft 2003](#)). Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes. Os dados de sobrevivência e prevalência foram transformados usando uma função arcsine de acordo com [Font et al. \(2007\)](#).

RESULTADOS

Perfil ácido gordo do óleo de coco (*C. nucifera*). Foi identificado um total de 36 ácidos gordos, dos quais 12 apresentaram valores percentuais (g/100 g de gordura) (Tabela 1). Os restantes ácidos gordos apresentaram valores $< 0,01$ abaixo do limite mínimo de calibração detectável. Dentro desta determinação 94,52 % corresponde a gorduras saturadas, 4,90 % a gorduras monoinsaturadas e 0,83 % a gorduras polinsaturadas.

Composição químico-proximal das dietas experimentais. Os resultados da análise proximal do tratamento I (AC), tratamento II (AC + 2,5% OCEV) e tratamento III (AC + 5% OCEV) são apresentados na tabela 2. A percentagem de humidade foi mais baixa no tratamento III com um valor de 10,91%, seguida do tratamento II com um valor de 12,30% e do tratamento I com 12,37%. A percentagem de cinzas foi de 8,12%, 8,34% e 8,52% para os tratamentos I, III e II, respectivamente. Quanto aos lípidos, foi obtida uma percentagem de 5,26% para o tratamento I, seguida de 7,64% para o tratamento II e 10,09% para o tratamento III. A percentagem de proteínas foi de 32,89 %, 34,53 % e 35,28 %, correspondendo ao tratamento III, II e I, respectivamente. A percentagem de fibra bruta foi de 4,53 % para o tratamento II, 6,86 % para o tratamento III e 9,67 % para o tratamento I; enquanto para o total de hidratos de carbono a percentagem mais baixa foi para o tratamento II com 37,01 %, seguida do tratamento III com 37,77 % e do tratamento I com 38,97 %. As percentagens de proteínas, lípidos e hidratos de carbono em relação à dieta total em cada um dos tratamentos estavam dentro dos requisitos nutricionais recomendados para *L. vannamei*, segundo [Martínez-Córdova et al. \(2014\)](#).



Tabela 1. Perfil de ácido gordo do óleo de coco puro

NOME COMUM	TIPO DE GORDURA	CONCENTRAÇÃO (%) (g/100g de gordura)
Ácido lignocérico	Saturada	0.03
Ácido araquídico	Saturada	0.08
Ácido capróico	Saturada	0.77
Ácido esteárico	Saturada	2.92
Ácido caprico	Saturada	6.38
Ácido palmítico	Saturada	8.03
Ácido Caprílico	Saturada	8.60
Ácido mirístico	Saturada	17.97
Ácido láurico	Saturada	49.47
ácido butírico, ácido pentadecanóico, ácido heptadecanóico, ácido heneicosanóico, ácido behenic, ácido tricosanóico	Saturada	<0.01*
cis-11- Ácido eicosenóico	Monoinsaturada	0.03
Ácido oleico (grupo ómega 9)	Monoinsaturada	4.87
Ácido miristoleico, ácido cis-10- pentadecenóico, ácido palmitoleico, ácido cis-10- heptadecenóico, ácido nervónico (Grupo Omega 9), ácido erúico (Grupo Omega 9)	Monoinsaturada	<0.01*
Ácido linoleico (Grupo Omega 6)	Poliinsaturada	0.83
g- ácido linolénico (Grupo Omega 6), ácido linolénico (Grupo Omega 3), cis-4,7,10,13,16,19- ácido docosaheptaenóico (Grupo Omega 3), cis-5,8,11,14,17- ácido eicosapentaenóico (Grupo Omega 3), cis-11, 14- ácido eicosadienóico, cis-8,11,14- ácido eicosatrienóico (Grupo Ómega 6), cis-11-14-17- ácido eicosatrienóico (Grupo Ómega 3), ácido araquidónico (Grupo Ómega 6), cis-13,16- ácido docosadienóico (Grupo Ómega 6)	Poliinsaturada	<0.01*
ácido elaídico (C18:1 TFA), ácido linolelaídico (C18:2 TFA), C18:3 TFA	Trans	<0.01*

*abaixo o nível de calibração mais crítico

Bioensaio I.

Parâmetros físico-químicos. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram mantidos dentro dos intervalos ideais para a cultura de *L. vannamei* durante os 20 dias do bioensaio, de acordo com Brock & Main (1994).

Qualidade da água (amónio, nitrito e nitrato). Durante a cultura, verificou-se que as concentrações de compostos de azoto se encontravam dentro da gama ideal para a cultura do camarão branco, segundo Boyd (2001) and SENASICA (2003).



Tabela 2. Composição química próxima das dietas experimentais

Composição aproximada (% em peso)	Tratamentos		
	I	II	III
Humidade	12.37	12.30	10.91
Cinzas	8.12	8.52	8.34
Lípidos (extracto etéreo)	5.26	7.64	10.09
Proteínas (N-6.25)	35.28	34.53	32.89
Fibra bruta	9.67	4.53	6.86
Hidratos de carbono totais	38.97	37.01	37.77

Tratamentos: I) CA (35% de proteína); II) CA + 2,5% de OCEV; III) CA + 5% de OCEV

Sobrevivência e taxa de crescimento específica (TCE). Não foram encontradas diferenças significativas na sobrevivência entre tratamentos ($p = 0,256$); contudo, a sobrevivência (fig. 1) no tratamento I foi de 100%, enquanto nos tratamentos II e III com 2,5% e 5% de OCEV foram obtidos valores de 93,33% e 98,89%, respectivamente.

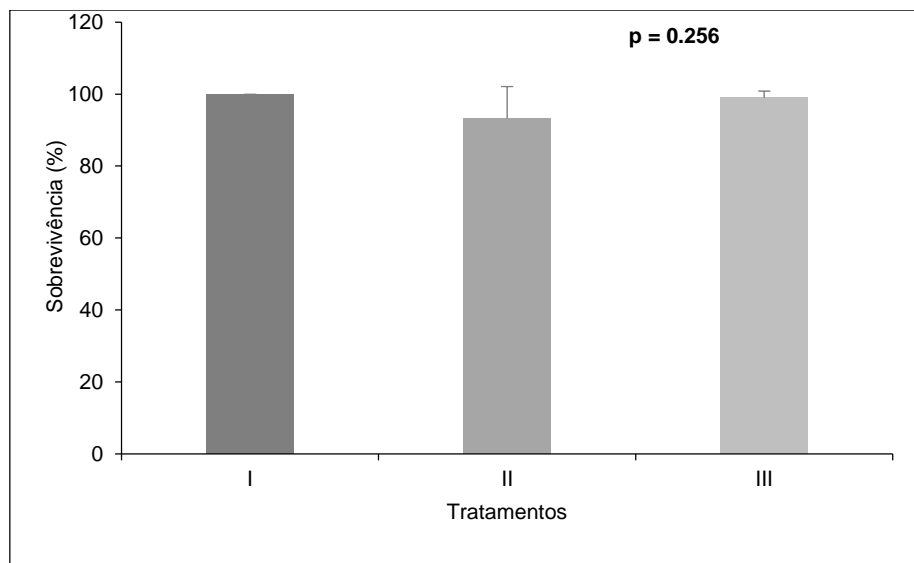


Figura 1: Sobrevivência de *L. vannamei*. Tratamentos: I) Controlo CA (35 % proteína); II) CA + 2,5 % OCEV; III) CA + 5 % OCEV

A análise estatística não mostrou diferenças significativas no TCE (% dia⁻¹), entre tratamentos ($p = 0,668$); contudo, o TCE foi mais elevado no tratamento I com $1,44 \pm 0,32$ (% dia⁻¹), em relação ao tratamento II com $1,41 \pm 0,13$ (% dia⁻¹) e ao tratamento III com $1,28 \pm 0,11$ (% dia⁻¹) (fig. 2).

Contagem total de hemócitos (CTH). A contagem média total de hemócitos por mililitro de hemolinfa no tratamento I foi de $3,83 \times 10^6 \pm 0,52 \times 10^6$ células/mL. Nos tratamentos II e III foram $4,11 \times 10^6 \pm 0,36 \times 10^6$ células /mL e $3,92 \times 10^6 \pm 0,50 \times 10^6$ células/mL, respectivamente. A análise de variância (ANOVA) não mostrou diferenças significativas ($p = 0,449$) entre tratamentos (fig. 3).

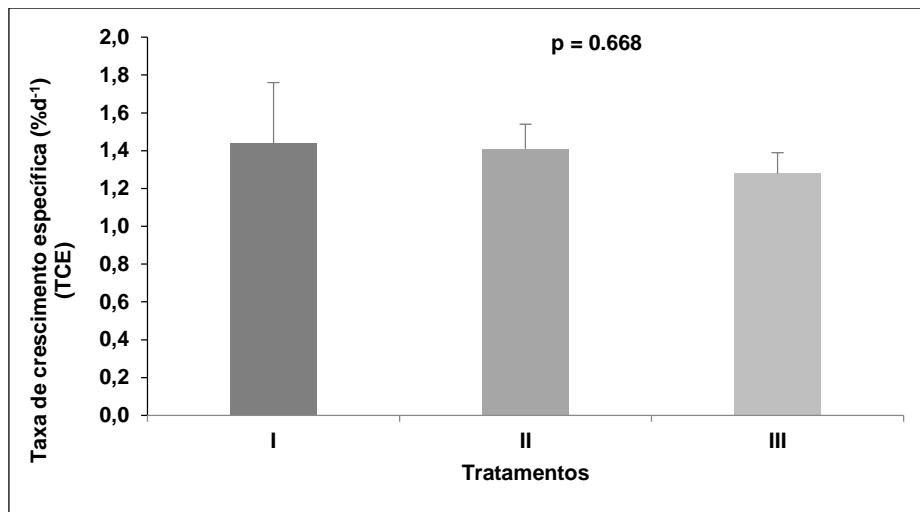


Figura 2. Taxa de crescimento específico de *L. vannamei*. Tratamentos: (I) controle CA (35 % proteína); (II) CA + 2,5 % OCEV; (III) CA + 5 % OCEV. As barras indicam o valor médio \pm desvio padrão e a análise (P) ANOVA da variância

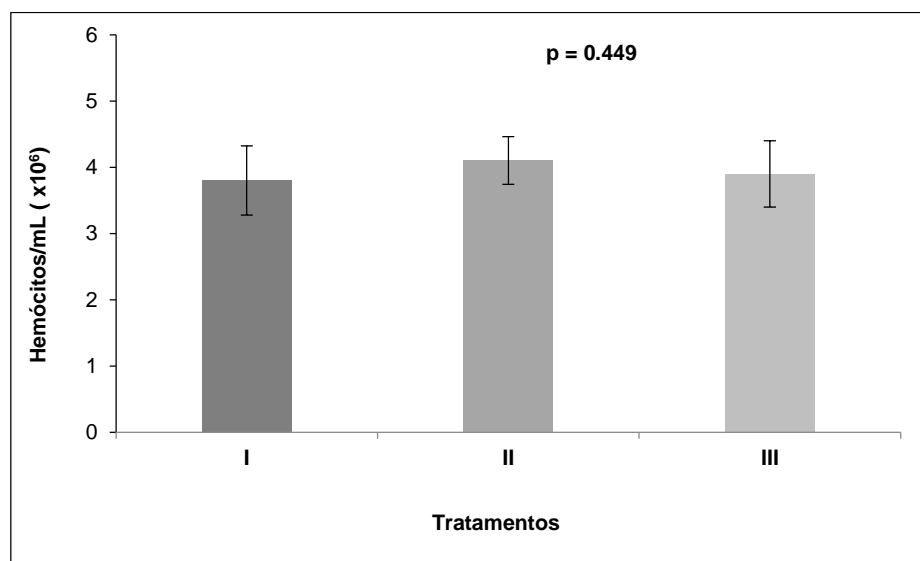


Figura 3. Contagem total de hemócitos (hemócitos/mL) em *L. vannamei*. Tratamentos: (I) controle CA (35 % proteína); (II) CA + 2,5 % OCEV; (III) CA + 5 % OCEV. As barras indicam o valor médio \pm desvio padrão e a análise (P) ANOVA da variância

Com base nos resultados obtidos, embora não tenham sido encontradas diferenças significativas entre os tratamentos com OCEV, o tratamento II (2,5% de OCEV) foi seleccionado para o bioensaio seguinte, pois foi aquele em que foi utilizada a menor quantidade de OCEV e também os resultados de TCE e CTH neste tratamento foram mais elevados do que nos outros tratamentos.



Bioensaio II.

Parâmetros físico-químicos. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram mantidos dentro dos intervalos ideais para a cultura de *L. vannamei* durante os 27 dias do bioensaio, de acordo com Brock & Main (1994).

Qualidade da água (amônio, nitrito e nitrato). Durante a cultura, verificou-se que a concentração de compostos de azoto estava dentro da gama ideal para a cultura do camarão branco, segundo Boyd (2001) e SENASICA (2003).

Taxa de crescimento específico (TCE). TCE (%dia⁻¹) não mostrou diferenças significativas ($p = 0,644$) entre os tratamentos (fig. 4). O tratamento I apresentou $0,60 \pm 0,10$ % dia⁻¹, o tratamento II apresentou $0,58 \pm 0,08$ % dia⁻¹; enquanto o tratamento III apresentou a maior taxa de crescimento específico por dia com $0,73 \pm 0,29$ (% dia⁻¹), e o tratamento IV apresentou $0,69 \pm 0,10$ % dia⁻¹. Estes resultados indicam que o OCEV não teve qualquer efeito sobre o TCE (%day⁻¹).

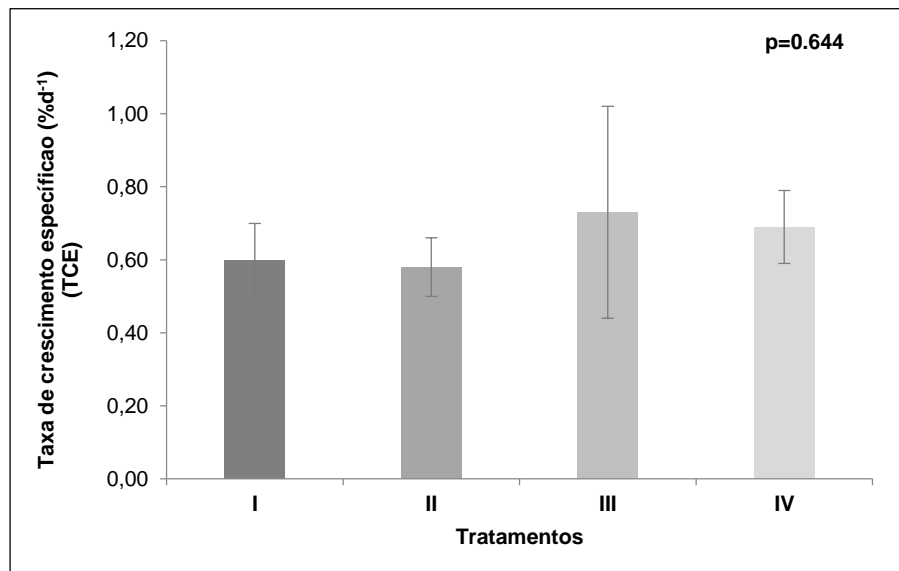


Figura 4. Taxa de crescimento específico de *L. vannamei*. Tratamentos: (TI) AC + WSSV; (TII) AC + 2,5 % OCEV + WSSV; (TIII) controle AC; (TIV) controle AC + 2,5 % ACEV. As barras indicam o valor médio \pm desvio padrão e a análise (P) ANOVA da variância

Sobrevivência e prevalência da WSSV. Sobrevivência (fig. 5), mostrou diferenças significativas ($p = 0,0030$) entre o tratamento I e o resto dos tratamentos. No tratamento I (infectado com WSSV) a sobrevivência foi menor com 83,3%, seguido pelo tratamento II (infectado com WSSV) com 93,3%. Nos tratamentos III e IV, a sobrevivência foi de 100%. Os resultados mostram que, apesar de estarem infectados com WSSV, os organismos em tratamento II com 2,5% de OCEV mostraram maior sobrevivência do que no tratamento I também infectado com WSSV, pelo que poderia ser considerado um efeito benéfico do OCEV contra WSSV.



A prevalência inicial de WSSV do camarão da exploração foi de 100% (determinada por PCR aninhada), e com reinfecção apenas nos tratamentos I e II, a prevalência foi de 100% (determinada por PCR única). No entanto, no final do bioensaio, foi analisada a prevalência de WSSV de todos os tratamentos e não foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,2192$).

A prevalência final de WSSV no camarão do tratamento I foi de 100% (determinada por PCR simples), no camarão do tratamento II foi de 96,67% (dos quais 86,21% foram determinados por PCR simples e 13,79% determinados por PCR aninhada), onde 93,33% foram infectados vivos, 3,33% foram infectados mortos e os restantes 3,33% não foram infectados. No tratamento III camarão a prevalência foi de 100% (determinada por PCR aninhada) e no tratamento IV camarão a prevalência foi de 93,33% (dos quais 100% foram determinados por PCR aninhada), onde 93,33% estavam infectados vivos e 6,66% estavam vivos, mas nenhum vírus estava presente.

Observou-se que no tratamento II não só a prevalência foi reduzida para 3,33 %, mas também a carga viral (determinada pela PCR aninhada); enquanto no tratamento IV a prevalência diminuiu 6,67 % (determinada pela PCR aninhada). Os resultados mostram que os tratamentos com 2,5% de OCEV tiveram um efeito decrescente na prevalência de WSSV e na carga viral (fig. 5).

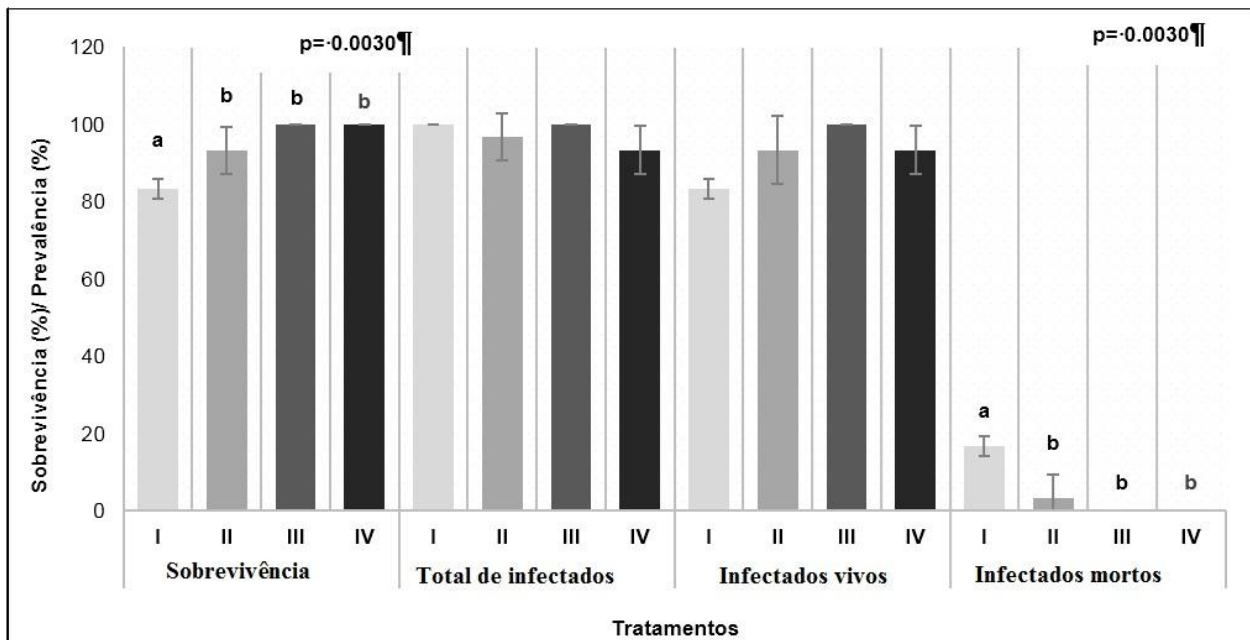


Figura 5. Figura 5: Sobrevivência (%), prevalência (%), infectados vivos (%), infectados mortos (%) de *L. vannamei*. Tratamentos: I) AC + WSSV; II) AC + 2,5 % OCEV + WSSV; III) controlo AC; IV) controlo AC + 2,5 % OCEV. As barras indicam o valor médio \pm erro padrão e (P) análise ANOVA da variância. As cartas indicam diferenças significativas entre tratamentos de acordo com o teste de gama múltipla Tukey



Contagem total de hemócitos (CTH). A análise estatística da contagem total de hemócitos não mostrou diferenças significativas ($p = 0,413$) entre os tratamentos. A contagem total de hemócitos por mililitro de hemolinfa foi maior no tratamento III com uma média de $4,37 \times 10^6 \pm 0,52 \times 10^6$ células /mL, seguido pelo tratamento IV com $4,27 \times 10^6 \pm 0,46 \times 10^6$ células /mL, tratamento II com uma média de $4,10 \times 10^6 \pm 0,46 \times 10^6$ células /mL e tratamento I com uma média de $3,99 \times 10^6 \pm 0,57 \times 10^6$ células /mL (fig. 6).

Conteo total de hemocitos (CTH). El análisis estadístico del conteo total de hemocitos no mostró diferencias significativas ($p = 0.413$) entre los tratamientos. El conteo total de hemocitos por mililitro de hemolinfa fue mayor en el tratamiento III con un promedio $4.37 \times 10^6 \pm 0.52 \times 10^6$ células /mL, seguido del tratamiento IV con $4.27 \times 10^6 \pm 0.46 \times 10^6$ células/mL, el tratamiento II con un promedio de $4.10 \times 10^6 \pm 0.46 \times 10^6$ células/mL y el tratamiento I con un promedio $3.99 \times 10^6 \pm 0.57 \times 10^6$ célula /mL (fig. 6).

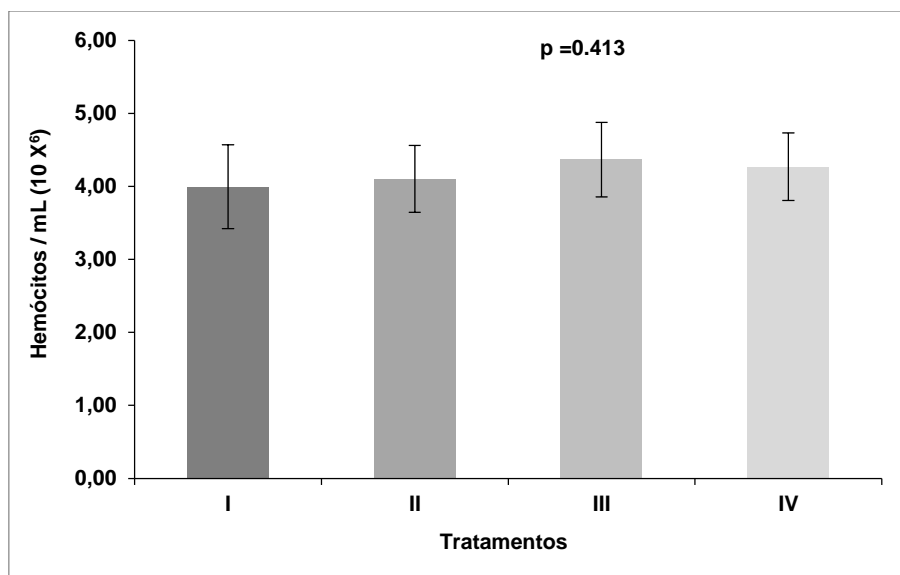


Figura 6. Contagem total de hemócitos (hemócitos/mL) em *L. vannamei*. Tratamentos: (I) AC + WSSV; (II) AC + 2,5 % OCEV + WSSV; (III) controle AC; (IV) controle AC + 2,5 % OCEV. As barras indicam o valor médio \pm desvio padrão e a análise (P) ANOVA da variância

DISCUSSÃO

Devido ao impacto negativo de doenças causadas por diferentes agentes etiológicos, tais como vírus e bactérias, bem como a sua resistência aos antibióticos utilizados no tratamento e controle de doenças infecciosas (Lieberman *et al.*, 2006), é necessário implementar novas estratégias para melhorar a imunidade de importantes espécies aquícolas e aumentar a resistência contra vírus e bactérias, promovendo também a resistência ao stress através da suplementação dos aquafeeds com aditivos imunoestimulantes naturais (Berger, 2000; Rendón & Balcázar, 2003).

Segundo Turchini *et al.* (2009) e Turchini *et al.* (2011), uma das principais alternativas aplicadas como aditivo alimentar são os óleos vegetais, uma vez que oferecem uma vasta



gama de ácidos gordos de cadeia média (AGCM) com baixo peso molecular. De acordo com [Kapilan & Reddy \(2008\)](#) y [Akinnuga et al. \(2014\)](#), o óleo de coco é composto principalmente de AGCM; além duma variedade de compostos fenólicos, que de acordo com [Nevin & Rajamohan \(2009\)](#) melhoram a actividade enzimática antioxidante e absorvem o excesso de radicais livres nas células. Por outro lado, [Lu et al. \(2018\)](#) salientam que no caso do ácido láurico, estimula o crescimento e a saúde de algumas espécies aquáticas como o *Pelteobagrus fulvidraco*. Na análise do perfil de ácidos gordos do OCEV utilizado neste trabalho, o ácido láurico apresentou uma concentração de 49,47% (g/100g de gordura), onde a elevada concentração sugere que este óleo poderia ser utilizado como tratamento alternativo ao problema actual contra os agentes patogénicos nas explorações de camarão, uma vez que pode ser adicionado à alimentação para combater o WSSV ou reduzir a sua carga viral.

De acordo com [Niu et al. \(2018\)](#), as substâncias aplicadas em sistemas de cultura ou alimentos para animais não devem alterar o valor nutricional nem afectar negativamente o desempenho produtivo dos organismos. Isto coincide com os resultados actuais sobre a composição químico-proximal, onde se demonstra que a adição no OCEV não afectou os valores nutricionais das dietas experimentais e estava dentro dos valores óptimos para o desenvolvimento de *L. vannamei* relatados por [Martínez-Córdova et al. \(2014\)](#). Com respeito ao TCE, no Bioensaio 1 e 2, não foi observado qualquer efeito no camarão quando o OCEV foi utilizado em diferentes concentrações. No Bioensaio 1, observou-se que à medida que a concentração lipídica (% por peso) aumentava, o TCE mostrava uma tendência para diminuir. De acordo com [Cahu \(1994\)](#), os níveis óptimos de lípidos recomendados para a alimentação comercial do camarão variam entre 6 e 7,5%, sem exceder 10%; contudo, nos resultados desta investigação, foram encontrados entre 5,26% (AC), 7,64% (2,5% OCEV) e 10,09% (5% OCEV), apesar de estarem dentro do nível óptimo de lípidos totais (5-10%), numa dieta para camarão. De acordo com [Martínez-Córdova et al. \(2014\)](#) e [López-Marcos \(2020\)](#), poderia considerar-se que os TCE mais baixos se devem a um excesso nos níveis de lípidos ([Cahu, 1994](#)).

A literatura científica sobre o efeito do óleo de coco em *L. vannamei* é escassa; contudo os resultados do TCE deste estudo são consistentes com os relatados por [Apraku et al. \(2017\)](#), que avaliaram a mistura de óleo de coco virgem e óleo de peixe no crescimento e resistência ao *Streptococcus iniae* na tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), descobrindo que o crescimento não foi afectado quando substituiu parcial e completamente o óleo de peixe por óleo de coco virgem. Além disso, estes resultados estão de acordo com outros trabalhos, onde foram utilizados óleos vegetais, tais como o de [Mozanzadeh et al. \(2015\)](#); que referem que o desempenho de crescimento dos juvenis *Sparidentex*, mesmo quando alimentados com dietas alternativas de óleo vegetal (óleo de canola e óleo de girassol), não foi comprometido quando substituiu parcial ou completamente a dieta de óleo de peixe.

Quanto à sobrevivência, no Bioensaio 1 não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos; enquanto no Bioensaio 2, 100% dos organismos provinham de tanques de criação de camarão infectados com WSSV (baixa carga viral), mas adicionalmente foi realizada uma reinfecção nos tratamentos I e II, resultando numa



elevada carga viral no final do bioensaio e na menor sobrevivência (83.3 %) observados no tratamento I (AC com WSSV), em comparação com os restantes tratamentos II (OCEV com WSSV), III (AC) e IV (OCEV). Estes resultados estão de acordo com [Raa \(1996\)](#), que menciona que o objectivo da utilização de imunoestimulantes no sector da aquicultura é melhorar a sobrevivência e imunidade dos organismos cultivados. Isto é consistente com o facto de que quando o OCEV foi adicionado à alimentação do camarão, as taxas de sobrevivência do camarão desafiado com carga viral alta e baixa (WSSV) foram significativamente mais elevadas. Isto pode dever-se a [Fife \(2013\)](#), que salienta que, ao utilizar ácido láurico através da ingestão diária de óleo de coco, pode proteger e prevenir infecções causadas por diferentes vírus, tais como o vírus da imunodeficiência humana (VIH), sarampo, *Herpesviridae*, vírus da gripe, entre outras doenças.

Os hemócitos são responsáveis pela coagulação, endurecimento do exoesqueleto e remoção de materiais estranhos ([AftabUddin et al., 2017](#)). No bioensaio I deste estudo, foi obtida uma maior contagem total de hemócitos nos tratamentos (II e III) contendo o aditivo OCEV em comparação com o tratamento I (AC), indicando que houve um aumento na resposta imunitária do camarão alimentado com este aditivo. A este respeito, [Sequeira et al. \(1996\)](#) mencionam que a proliferação de hematócitos pode aumentar até três vezes quando os camarões são alimentados com um imunoestimulante; contudo, embora no bioensaio II não se tenham encontrado diferenças significativas entre os tratamentos, observou-se uma diminuição na CTH dos tratamentos I e II (infectados com WSSV) no que diz respeito aos tratamentos III e IV. Estes resultados estão de acordo com os relatados por [Niu et al. \(2018\)](#), que alimentaram o camarão com diferentes valores dietéticos de imunoestimulantes de macroalgas, e, quando desafiado pela WSSV, o número de hemócitos foi significativamente reduzido. A diminuição da contagem total de hemócitos pode ser atribuída a hematócitos que migram para o local da infecção ([Söderhäll et al., 2003](#)) ou onde há danos nos tecidos ([Niu et al., 2018](#)).

A doença da mancha branca causou mortalidades graves em explorações de camarão em todo o mundo ([Jiang et al., 2006](#)), sendo responsável por grandes perdas económicas nesta indústria ([Sahul et al., 2006](#)), tornando necessário prevenir ou controlar a doença da mancha branca ([Huyhn et al., 2011](#)).

No desenvolvimento do bioensaio II, observou-se que a prevalência inicial era de 100% de WSSV (determinada por PCR aninhada) com baixa carga viral, o que significava que todos os organismos estavam infectados a partir da exploração. É de notar que os tratamentos I e II foram reinfeksiados com inóculo viral para conduzir a experiência e no final do bioensaio observou-se que no tratamento I a prevalência final foi de 100% (determinada por PCR única) com elevada carga viral, no tratamento III a prevalência foi de 100% (determinada por PCR aninhada); enquanto nos tratamentos OCEV, tratamento II (2,5% OCEV + WSSV) e tratamento IV (2,5% OCEV). A prevalência diminuiu para 96,67 % e 93,33 %, respectivamente; contudo, observou-se que no tratamento II não só a prevalência do vírus (96,67 %) mas também a carga viral diminuiu; dos quais 86,21 % foram determinados por uma única PCR e 13,79 % por uma PCR aninhada.

A diminuição da prevalência e da carga viral nos tratamentos com OCEV sugere que a sua aplicação como suplemento dietético exerce actividade antiviral contra o WSSV e reduz as cargas virais de forma semelhante à relatada por [Lieberman et al. \(2006\)](#) e [Fife](#)



(2013), notando que o OCEV é composto por AGCM como: ácido láurico com cerca de 48-50 % na sua composição, seguido por ácido mirístico com cerca de 15 % (Fife, 2013; Ruiz *et al.*, 2016), ácido caprílico (8 %) (Fife, 2013; Akinnuga *et al.*, 2014) e ácido caprílico (7 %) (Fife, 2013). Estes compostos demonstraram ser eficazes contra bactérias, fungos e vírus (Esquenazi *et al.*, 2002). No caso de vírus, Oyi *et al.* (2010) mencionam que um componente do óleo de coco chamado monocaprina destruiu o vírus HIV e *herpes simplex* (HSV) no espaço de um minuto. Da mesma forma, Fife (2013) relatou que o AGCM presente no óleo de coco pode inativar vírus como o VIH, vírus coronavírus associado à síndrome respiratória aguda, vírus do sarampo, vírus da rubéola, *Herpesviridae*, vírus do sarcoma, vírus sincicial respiratório, vírus sincicial respiratório, *Herpesviridae* e HSV, vírus sincicial respiratório, vírus limfotrópico humano (tipo 1), vírus da estomatite vesicular, vírus Visna, citomegalovírus humano (CMV), vírus Epstein-Barr (EBV), vírus da gripe, vírus da hepatite C (HCV) e coxsackievírus B4. A este respeito, Murray (1994) e Dayrit (2000) registaram uma diminuição da carga viral do VIH para níveis indetectáveis em pessoas infectadas com o mesmo vírus e uma melhoria acentuada na sua saúde após o consumo de coco. Portanto, sugere-se que o OCEV composto de AGCM como o ácido láurico oferece a possibilidade de diminuir a carga viral, que por sua vez pode ser utilizada como forma de tratamento imunoterapêutico e preventivo de infecções por WSSV.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, a adição de OCEV 2,5% na ração promoveu uma diminuição da prevalência e da carga viral de WSSV nos juvenis de *L. vannamei*; não mostrou efeitos negativos na sobrevivência e CTH de *L. vannamei*. Além disso, não foi registada qualquer imunossupressão ou redução da resposta imunitária, uma vez que não houve diferenças significativas no CTH entre os tratamentos em ambos os bioensaios.

Esta investigação é o primeiro relatório sobre o efeito da *Cocos nucifera* OCEV na sobrevivência do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) desafiado com a WSSV. Por conseguinte, recomenda-se a realização de estudos sobre a utilização de OCEV em rações sob diferentes esquemas de formulação e tempos de aplicação em rações para camarão. Além disso, é essencial continuar a estudar as respostas imunonutricionais do OCEV quando incluído numa formulação alimentar.

AGRADECIMENTOS: Membros do Grupo Académico de Biotecnologia de Alimentos Funcionais (UAN-CA-255) e da Rede Temática de Bioprodutos e Bioprocessos promovida pelo Programa DELFIN participaram neste estudo.

LITERATURA CITADA

AFTABUDDIN S, Siddique MAM, Romkey SS, Shelton WL. 2017. Antibacterial function of herbal extracts on growth, survival and immunoprotection in the black tiger shrimp



Penaeus monodon. *Fish and Shellfish Immunology*. 65: 52-58. ISSN:1050-4648.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.050>

AKINNUGA AM, Jeje SO, Bamidele O, Amaku EE, Otego FO, Sunday VE. 2014. Virgin Coconut Oil: Remedial Effects on Renal Dysfunction in Diabetic Rats. *Physiology Journal*. 1-5. ISSN: 1469-7793. <https://doi.org/10.1155/2014/495926>

ANGELES-AGDEPPA I, Nacis JS, Capanzana MV, Dayrit FM, Tanda KV. 2021. Virgin Coconut oil is effective in lowering C-reactive protein levels among suspect and probable cases of COVID-19. *Journal of functional foods*. (83). 104557. ISSN: 1756-4646. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104557>

APRAKU A, Liu L, Leng X, Rupia EJ, Ayisi CL. 2017. Evaluation of blended virgin Coconut oil and fish oil on growth performance and resistance to *Streptococcus iniae* challenge of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4 (3) 175-184. ISSN:2313-808X. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2017.06.002>

BARRACCO MA, Perazzolo LM, Rosa RD. 2014. Avances en la Inmunología del Camarón. In: Morales V, Cuéllar-Anjel J. (Eds.). Guía Técnica Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. OIRSA, Panamá, Rep. de Panamá. Pp. 237-306. ISBN: 978-9962-661-02-3.

https://utm.edu.ec/fcv/acuicultura/images/acuicultura/pdf_revistas/Guia_Tecnica_Patologia_Inmunologia_de_Camarones_Penaeidos.pdf

BERGER C. 2019. Aportes de la bio-tecnología a la alimentación y a la inmunoestimulación de camarones peneidos. *Avances En Nutrición Acuícola*. Pp. 19-22. <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/268/266>

BOYD CE. 2001. Consideraciones Sobre La Calidad Del Agua y Suelo en Cultivos de Camarón En Haws, MC, Boy CE (eds). Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. Editorial-Imprenta UAC, Managua, Nicaragua. 1ra Edición. Pp 1-30.

BRICKNELL I, Dalmo RA. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish and shellfish immunology*. 19(5): 457-472. ISSN: 1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.008>

BROCK JA, Main, KA. 1994. Guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. The Oceanic Institute, Honolulu, EUA. Pp 242. ISBN: 1886608008.

CABRERA E, Marcelo Z, Reyes W, Azañero C. 2019. Efecto de dietas con alta concentración de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proliferación de hemocitos en camarones *Cryphiops caementarius* machos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 30 (3): 1057-1067. ISSN: 1609-9117. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i3.16733>

CAHU C, Guillaume JC, Stéphan G, Chim L. 1994. Influence of phospholipid and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg and tissue composition in *Penaeus*



vannamei fed semi-purified diets. *Aquaculture*. 126(1-2): 159-170. ISSN: 0044-8486.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90257-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90257-7)

DAYRIT CS. 2000. Coconut oil in health and disease: its and monolaurin's potential as cure for HIV/AIDS. 31(4): 19-24. <https://doi.org/0.1.1.554.2770>

DEBMANDAL M, Mandal S. 2011. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 4(3):241-247. ISSN:1995-7645. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60078-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60078-3)

ELSBAEY M, Ibrahim MA, Bar FA, Elgazar AA. 2021. Chemical constituents from coconut waste and their *in silico* evaluation as potential antiviral agents against SARS-CoV-2. *South African Journal of Botany*. (141): 278-289. ISSN: 0254-6299.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.05.018>

ESCOBAR GC, Pachamoro LM, Reyes AW. 2017. Supervivencia y crecimiento de machos adultos del camarón de río *Cryphiops caementarius* Molina, 1782 (Crustacea, Palaemonidae) expuestos a salinidades. *Ecología Aplicada*.16 (2): 75-85. ISSN:1726-2216. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v16i2.1010>

ESPARZA LHM, Escobedo BCM, Casillas HR, Álvarez RP, Portillo CG, Valerio GR. C, Magallón BFJ. 2009. Detection of white spot syndrome virus in filtered shrimp-farm water fractions and experimental evaluation of its infectivity in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture*. 292:16-22. ISSN: 0044-8486.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.021>

ESQUENAZI D, Wigg MD, Miranda MMFS, Rodrigues HM, Tostes JBF, Rozental S, Alviano CS. 2002. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Research in Microbiology*. 153 (10): 647-652. ISSN: 0944-501. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(02\)01377-3](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(02)01377-3)

FAO (Organización de las naciones unidad para la alimentación y la agricultura). 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma: Organización de las Naciones Unidas. ISBN 978-92-5-130688-8.
<http://www.fao.org/3/i9540es/i9540es.pdf>

FIFE B. (2013). El milagro del aceite de coco. *Agro Food Industry Hi-Tec*. 24(3): 7-10. ISBN: 9788478087136.

FISHER W, Krupp F, Schneider W, Sommer C, Carpenter KE, Niem VH. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-Oriental. Roma, Italia. (3). ISBN 92-5-303409-2. <https://decapoda.nhm.org/pdfs/29676/29676.pdf>

FLEGEL TW, Alday SV. 1998. The crisis in Asian shrimp aquaculture: current status and future needs. *Journal of Applied Ichthyology*. 14 (3-4): 269-273. ISSN:1439-0426.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1998.tb00654.x>



- FONT H, Torres V, Herrera M, Rodríguez R. 2007. Cumplimiento de la normalidad y homogeneidad de la varianza en frecuencias de medición acumulada de la variable producción de huevos en gallinas White Leghorn. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 41(3). ISSN: 0034-7485. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017693002>
<http://www.cesasin.com.mx/CentroAmerica/10%20Practicas%20de%20manejo.pdf>
- HUYNH TG, Yeh ST, Lin YC, Shyu JF, Chen LL, Chen JC. 2011. White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. chinense powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology*. 31(2): 286-293. ISSN: 1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.014>
- JIANG YS, Zhan WB, Wang SB, Xing J. 2006. Development of primary shrimp hemocyte cultures of *Penaeus chinensis* to study white spot syndrome virus (WSSV) infection. *Aquaculture*. 253: 114-119. ISSN: 0044-8486.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.045>
- KAPILAN N, Reddy RP. 2007. Evaluation of Methyl Esters of Mahua Oil (*Madhuca Indica*) as Diesel Fuel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 85 (2): 185-188. ISSN: 1558-9331. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1179-5>
- KIMURA T, Yamano K, Nakano H, Momoyama K, Hiraoka M, Inouye K. 1996. Detection of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathology*. 31(2): 93-98. ISSN: 1881-7335. <https://doi.org/10.3147/jfsp.31.93>
- LIEBERMAN S, Enig MG, Preuss HG. 2006. A Review of Monolaurin and Lauric Acid: Natural Virucidal and Bactericidal Agents. *Alternative and Complementary Therapies*. 12(6): 310-314. ISSN: 1557-9085. <https://doi.org/10.1089/act.2006.12.310>
- LÓPEZ MSG. 2020. Efecto del aceite vegetal (canola) y animal (sardina y salmón) en el alimento sobre la expresión transcripcional del camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, Baja California Sur, México. Pp 97. <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/1865>
- LU Y, Jin M, Yuan Y, Xiong J, Ma H, Zhou Q. 2018. Effects of different lipid sources on growth performance, body composition, the serum biochemical indices, fatty acids composition and antioxidant capacity in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Journal of Fisheries of China*. 42 (7): 1094-1110. ISSN:1000-0615.
<https://doi.org/10.11964/jfc.20170310739>
- MARGOLIS L, Esch GW, Holmes JC, Kuris AM, Schad GA 1982. The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology*. 68 (1): 131-133 ISSN: 0022-3395.
<https://doi.org/10.2307/3281335>



MARKS H. 2005. Genomics and transcriptomics of white spot syndrome virus. Wageningen University. Promotor(en): Just Vlak; R.W. Goldbach, co-promotor (en): M.C.W. van Hulst. Wageningen. Pp 160. ISBN: 90-8504-318-2.
<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/121730>

MARTÍNEZ CL, Martínez PM, López EJA, Enríquez OLF. 2014. Uso de microorganismos en el cultivo de crustáceos. *Biotechnia*.16 (3): 50-55. ISSN: 1665-1456.
<https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.141>

MONTOYA Ballesteros LC. 2021. Compuestos bioactivos en coco (*Cocos nucifera* L.). Efecto del cultivar y región de cultivo. *Biotechnia*. 23(2):22-29. ISSN:1665-1456.
<https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i2.1336>

MOZANZADEH MT, Marammazi JG, Yavari V, Agh N, Mohammadian T, Gisbert E. 2015. Dietary n3 LC-PUFA requirements in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). *Aquaculture*. ISSN: 0044-8486 448: 151-161.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.007>

MURRAY M. 1994. Natural alternative to Over-the Counter and prescription Drugs. Nueva York: William Morrow. Pp 357. ISBN: 0-688-12358-9.

NEVIN KG, Rajamohan T. 2009. Wet and dry extraction of coconut oil: impact on lipid metabolic and antioxidant status in cholesterol coadministered rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 87 (8): 610-616. ISSN: 1205-7541.
<https://doi.org/10.1139/Y09-045>

NIU J, Xie SW, Fang HH, Xie JJ, Guo TY, Zhang YM, Liu YJ. 2018. Dietary values of macroalgae *Porphyra haitanensis* in *Litopenaeus vannamei* under normal rearing and WSSV challenge conditions: Effect on growth, immune response and intestinal microbiota. *Fish and Shellfish Immunology*. 81: 135-149. ISSN: 1050-4648.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.06.010>

NOM (Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010), Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.
https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4010/seeco11_C/seeco11_C.htm

NOM (Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999) de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México.
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=764738&fecha=18/06/2001

NOM (Norma Oficial Mexicana, NOM-086-SSA1-1994). Bienes y Servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones Nutrimientales. Secretaría de Salud. México.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996



OIE (Organización mundial de sanidad animal). 2019. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. En capítulo 2.2.8. Infección por el virus del síndrome de las manchas blancas. Pp 1-16. <https://www.oie.int/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-acuatico/>

OYI AR, Onaolapo JA, Obi RC. 2010. Formulation and antimicrobial studies of coconut (*Cocos nucifera* Linne) oil. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. 2 (2): 133-137. ISSN: 2040-7467.
<https://www.researchgate.net/publication/285568592>

PATIL PK, Geetha R, Ravisankar T, Avunje S, Solanki HG, Abraham TJ, Vijayan KK. 2020. Economic loss due to diseases in Indian shrimp farming with special reference to *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*. (533): 736231. ISSN: 0044-8486.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736231>

RAA J. 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science*. 4(3): 229-288. ISSN: 1547-6553.
<https://doi.org/10.1080/10641269609388587>

RENDON L, Balcazar JL. 2003. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. *Revista AquaTIC*. 19:27-33. ISSN: 1578-4541.
<http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/256/244>

RUIZ NB, Dijck BDAJ, Muskiet FAJ. 2016. The relation of saturated fatty acids with low-grade inflammation and cardiovascular disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 36: 1-20. ISSN: 0955-2863. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.12.007>

SAHUL HAS, Sarathi M, Sudhakaran R, Balasubramanian G, Syed S. 2006. Quantitative assessment of apoptotic hemocytes in white spot syndrome virus (WSSV)-infected penaeid shrimp, *Penaeus monodon* and *Penaeus indicus*, by flow cytometric analysis. *Aquaculture*. 256(1-4): 111-120. ISSN: 0044-8486.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.054>

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2003. Manual de Buenas Prácticas de Producción de Acuicultura de Camarón para la Inocuidad Alimentaria. Pp 95. ISBN: 968-5384-04-5. <https://cesasin.mx/wp-content/uploads/2017/12/Cam-Manual-de-buenas-practicas-de-produccion-CC%81n-acuicola-de-camaro-CC%81n-para-la-inocuidad-alimentaria.pdf>

SEQUEIRA T, Tavares D, Arala Chaves M. 1996. Evidence for circulating hemocyte proliferation in the shrimp *Penaeus japonicus*. *Developmental and Comparative Immunology*. 20(2): 97-104. ISSN: 0145-305X.
[https://doi.org/10.1016/0145-305X\(96\)00001-8](https://doi.org/10.1016/0145-305X(96)00001-8)



SÖDERHÄLL I, Bangyeekhun E, Mayo S, Söderhäll K. 2003. Hemocyte production and maturation in an invertebrate animal; proliferation and gene expression in hematopoietic stem cells of *Pacifastacus leniusculus*. *Developmental and Comparative Immunology*. 27(8): 661-672. ISSN: 0145-305X. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(03\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(03)00039-9)

STATSOFT INC. 2003. Statistica (Data Analysis Software System), versión 06. www.statsoft.com

TURCHINI GM, Francis DS, Senadheera SPSD, Thanuthong T, De Silva, SS. 2011. Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray cod: evidence of an “Omega-3 sparing effect” by other dietary fatty acids. *Aquaculture*. 315 (3-4): 250-259. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.016>

TURCHINI GM, Torstensen BE, Ng WK. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*. 1(1): 10-57. ISSN: 1753-5131. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01001.x>

VARELA MA, Peña NN, Aranguren CLF. 2017. Necrosis aguda del hepatopáncreas: una revisión de la enfermedad en *Penaeus vannamei*. *Agronomía Mesoamericana*. 28 (3): 735-745. ISSN: 2215-3608. <http://doi.org/10.15517/ma.v28i3.27788>

VARGAS AF, Guzmán MA, Ochoa JL. 1993. A lipopolysaccharide-binding agglutinin isolated from brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes) haemolymph. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 104(2): 407-413. ISSN: 0305-049. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(93\)90387-K](https://doi.org/10.1016/0305-0491(93)90387-K)

WANG CS, Tang KFJ, Kou GH, Chen SN. 1997. Light and electron microscopic evidence of white spot disease in the giant tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), and the kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* (Bate), cultured in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*. 20(5): 323-331. ISSN: 0140-7775. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1997.00301.x>

ZIAEI NS, Rezaei MH, Takami GA, Lovett DL, Mirvaghefi AR, Shakouri M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*. 252(2-4): 516-524. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.021>

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>