



Reseña

Sistema inmune de camarones peneidos de cultivo: Una revisión

The Immune System of Penaeid Shrimp: A review

Leonardo Davier Martín Ríos ^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-9834-6314>

Georgina Espinosa López ² <https://orcid.org/0000-0003-0064-7464>

Olimpia Carrillo Farnés ² <https://orcid.org/0000-0002-4650-9123>

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

² Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia(email): amilcar.arenal@reduc.edu.cu

RESUMEN

Introducción: Con el aumento del cultivo intensivo del camarón, y el correspondiente incremento de la incidencia de enfermedades tanto virales como bacterianas, el estudio del sistema inmune es un tema que se le presta cada vez mayor atención en la acuicultura.

Objetivo. Actualizar la información sobre los avances en la comprensión del sistema inmune de camarones, haciendo énfasis en camarones peneidos.

Desarrollo: El sistema inmune innato del camarón consta de elementos pasivos y activos, las barreras físicas y las ramas humoral-celular respetivamente. También en los últimos años se incorporó el término de respuesta inmune entrenada como otro elemento clave en la respuesta inmune frente a patógenos. Se destaca el avance en la formalización de clasificaciones de hemocitos en función de parámetros moleculares, el avance en la comprensión de repuesta antiviral a través de ARN de interferencia, la creación de bases de datos de nuevos péptidos antimicrobianos y la evaluación de actividades enzimáticas como moduladores de la respuesta inmune.

Conclusiones: La comprensión de los mecanismos que median la respuesta innata y entrenada, como las citosinas de camarón, permiten el desarrollo de nuevas estrategias para el control de enfermedades en el cultivo del camarón.

Como citar (APA)

Martín Ríos, L., Espinosa López, G., & Carrillo Farnés, O. (2022). Sistema inmune de camarones peneidos de cultivo: Una revisión. *Revista de Producción Animal*, 34(1). <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4036>



©El (los) autor (es), Revista de Producción Animal 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), asumida por las colecciones de revistas científicas de acceso abierto, según lo recomendado por la Declaración de Budapest, la que puede consultarse en: Budapest Open Access Initiative's definition of Open Access.

Palabras claves: Camarón, enfermedades, hemocitos, respuesta inmune (*Fuente: MESH*)

ABSTRACT

Introduction: The study of the immune system is gaining more relevance in aquaculture resulting from increases in intensive shrimp culture, and the ensuing step up of viral and bacterial diseases.

Aim. To provide updated information of the advances associated with the understanding the immune system of shrimps, particularly penaeid shrimp.

Development: The innate immune system of shrimps contains passive and active elements, physical barriers, and humoral-cellular branches, respectively. In recent years, the term trained immunity was added as another key element of immune response against pathogens. Emphasis is made on the acceptance of classifications of hemocytes based on molecular parameters, the advancement in understanding antiviral response through interference RNA, the creation of databases of new antimicrobial peptides, and the evaluation of enzymatic activities as modulators of the immune response.

Conclusions: Understanding the mechanisms that mediate the innate and trained immunity, such as shrimp cytokines, permit the implementation of new strategies for disease control in shrimp culture.

Keywords: Shrimp, diseases, hematocytes, immune response (*Source: MESH*)

Recibido: 12/9/2021

Aceptado: 3/11/2021

INTRODUCCIÓN

La acuicultura resulta ser el sector de producción animal de más rápido crecimiento; y dentro de este, el camarón se encuentra entre los productos más comercializados el segundo grupo principal de especies exportadas en términos de valor (FAO, 2018). Los países de América Latina y Asia oriental y sudoriental representan la mayor parte de la producción de estas especies, pero una gran proporción del consumo se realiza en los mercados desarrollados. Más importante aún, en los últimos años, debido al aumento de los ingresos, la demanda de este producto acuático de alta calidad aumentó en los países en desarrollo y creó una competencia para el mercado existente. Así que, para garantizar el suministro, la producción futura de camarón debe contar cada vez más con la acuicultura intensiva (Roy *et al.*, 2020). La acuicultura intensiva se basa en el cultivo de camarones en un entorno artificial de alta densidad con un entorno estresante para los animales y proporciona un entorno ideal para los brotes de enfermedades. Las pandemias virales (mediados de la década de 1990) y más recientemente bacterianas (de 2009 a 2018) representan la mayoría de las pérdidas por enfermedades para los criadores de camarones (Flegel, 2019). Por lo que se deriva la necesidad de profundizar el estudio del sistema inmune de estos animales y las formas de potenciar la respuesta ante los principales patógenos que afectan al camarón.

Los crustáceos no presentan inmunidad adquirida ni memoria inmunológica semejante a vertebrados superiores, pero sí una inmunidad innata constituida por barreras físicas (exoesqueleto y membrana peritrófica) y elementos de la respuesta activa (mecanismos hemostáticos, respuesta celular y humoral). Sin embargo, en los últimos años, se informan avances en el entendimiento de un tipo de memoria inmunológica en crustáceos y particularmente en camarones peneidos. Roy y colaboradores (2020) sugieren el término de respuesta inmune entrenada frente a memoria inmune adaptativa, por divergir en varios aspectos de esta última como: el tiempo de persistencia de la memoria y los mecanismos celulares y moleculares que la llevan a cabo.

Dado que en los últimos años existe un aumento de la bibliografía sobre el tema, desarrollamos esta revisión con el objetivo de actualizar sobre los principales adelantos en la comprensión del sistema inmune de camarones peneidos de especies que se cultivan.

DESARROLLO

Los mecanismos de la respuesta activa del sistema inmune en camarones peneidos, inicialmente se basan por lo general en una primera etapa en el reconocimiento y asociaciones moleculares entre antígenos patógenos y moléculas de reconocimiento. Luego pueden desencadenarse una serie de respuestas inmunológicas que abarcan desde la activación de enzimas tales como peroxidasa, superóxido dismutasa, y las del sistema pro-fenoloxidasa (proPO) hasta el mecanismo de reconocimiento, citotóxicos y celulares, entre los que se encuentran las proteínas de la coagulación, lectinas, péptidos, antimicrobianos, peroxinectinas, generación de O₂, quinonas, opsonización, fagocitosis y nodulación, entre otras, con el objetivo de eliminar el agente patógeno. En todos estos mecanismos, los hemocitos juegan un papel central, tanto en la producción y liberación de proteínas y especies bioactivas como en procesos más complejos como la interacción célula-célula (Maningas *et al.*, 2008). Según estudios en crustáceos decápodos, efectos primarios atribuidos a cambios físico-químicos ambientales, tienen incidencia sobre el sistema inmunorregulador (Millard *et al.*, 2020). Factores intrínsecos como, talla, sexo y el estatus también pueden afectar el sistema inmune de los camarones Peneidos (Castex *et al.*, 2009).

Barreras físicas pasivas

En los invertebrados las barreras físicas (membrana peritrófica y el exoesqueleto) constituyen el primer obstáculo que deben superar los microorganismos para poder invadir el organismo (Vazquez *et al.*, 2009). La membrana peritrófica es una estructura no celular y semipermeable que rodea el bolo alimenticio en el intestino medio de los crustáceos, compuesta por microfibrillas de quitina y algunas proteínas específicas embebidas en proteoglicanos. Esta compartimentalización permite un intercambio de sustancias restringido por el tamaño de los poros (de aproximadamente 10 nm), lo que le confiere al organismo varias ventajas, entre las que se encuentra la protección frente a toxinas y patógenos que tienen un tamaño mayor al de los

poros (Peters, 2012). Algunos microorganismos pueden burlar esta barrera por la acción de quitinasas y proteasas (Masri *et al.*, 2021).

El exoesqueleto es el soporte del cuerpo de los animales que lo presentan, y está compuesto por materiales rígidos y resistentes como la quitina y carbonato de calcio (Aguirre Guzman y Ascencio Valle, 2000). Sin embargo, muchas regiones del cuerpo no están recubiertas por el exoesqueleto, como la glándula antenal y órganos excretores, y resultan la principal vía de entrada para microorganismos patógenos (De Gryse *et al.*, 2020).

Respuesta Humoral

Mecanismos hemostáticos

Una parte importante de la defensa molecular activa de los invertebrados lo constituye el sistema de coagulación. Las proteínas y enzimas involucradas en este proceso se encuentran mayormente en el plasma de la hemolinfa y en los hemocitos. Los factores de la coagulación, las proteínas coagulantes (CP), las transglutaminasas y las trombospondinas, entre otras funciones, evitan las pérdidas de hemolinfa en casos de heridas o laceraciones. En crustáceos algunas de estas moléculas reconocen y neutralizan las células y partículas no propias del organismo, lo cual evita que microorganismos o partículas extrañas se diseminen (Iwanaga y Lee, 2005).

La transglutaminasa se libera de los hemocitos en la presencia de agentes patógenos a través de receptores específicos (Ariki *et al.*, 2004). En *Penaeus vannamei* se identificaron 2 tipos de transglutaminasa donde su expresión ocurre casi exclusivamente en hemocitos, aunque se observaron niveles de expresión del ARNm muy bajos en células del intestino medio y el ganglio neural (Wang *et al.*, 2007). Existen evidencias de dos tipos de genes transglutaminasa en el camarón tigre, *P. monodon*, camarón kuruma, *Masupenaeus japonicus*, y *P. vannamei* (Yeh *et al.*, 2013). Los resultados obtenidos por Chang y colaboradores, indican que LvTGI y LvTGII revelan un efecto complementario en los niveles de expresión génica; y además desempeñan una función clave en el mecanismo de defensa inmune del camarón, al regular la coagulación de la hemolinfa, los parámetros inmunitarios y la expresión de genes relacionados con la inmunidad, y en la regulación de metabolismo de los carbohidratos (Chang *et al.*, 2016).

Lectinas

Las lectinas son proteínas que poseen la habilidad de unir específicamente carbohidratos que se expresan en la superficie de diferentes células. Debido a que son por lo general divalentes (tienen al menos dos sitios de unión específica), pueden unir células y por tanto aglutinarlas (Sahoo *et al.*, 2007). Las lectinas están presentes en casi todos los organismos y se le atribuyen varias funciones biológicas como transporte de carbohidratos a nivel celular y entre tejidos; factores citolíticos y citotóxicos; y adhesión, migración y apoptosis celular. (Vazquez *et al.*, 2009). La mayoría de las lectinas de los decápodos muestran especificidad fundamentalmente por derivados del ácido siálico N-acetilados tales como NeuAc, GlcNAc y GalNAc (Alpuche *et al.*, 2005). Las lectinas funcionan como Receptor de reconocimiento de patrones (PRR) y que la variabilidad del

reconocimiento de carbohidratos podría representar una amplia gama de identificación para diferentes patógenos (Vasta *et al.*, 2012).

La actividad antiviral es un mecanismo inmunológico relevante entre las lectinas de los crustáceos. *M. japonicus* posee cinco lectinas con actividad antiviral y todas interactúan con las proteínas del WSSV. Además, tres de estas lectinas podrían reconocer diferentes proteínas de la envoltura del WSSV (Sánchez-Salgado *et al.*, 2017). Los ensayos *in vitro* revelaron que la presencia de *MjLecA* y *MjLecB* inhibe la infección de hemocitos por WSSV (Song *et al.*, 2010). Las lectinas de *M. japonicus*, *LdlrLec1* y *LdlrLec2*, interactúan con *VP28*, que es necesaria para la unión y penetración del WSSV en las células del camarón. Los patrones de expresión de ARNm para ambas lectinas se regularon positivamente con la presencia de WSSV, mientras que la eliminación de la expresión de *LdlrLec1* y *LdlrLec2* por interferencia de ARN aumentó la replicación viral *in vivo*. Las tasas de infección de WSSV incubado con *LdlrLec* bajaron significativamente en comparación con el grupo de control (Xu *et al.*, 2014). En otro peneido, *Farfantapenaeus californiensis*, una lectina fue capaz de reaccionar con al menos 3 diferentes tipos de *Vibrio*. *V. vulnificus*, *V. fischeri* y *V. parahaemolyticus* (Rendón y Balcázar, 2016).

A pesar del papel fundamental de las lectinas en el reconocimiento de lo no propio y la opsonización, también parecen estar involucradas en la neutralización, y algunas evidencias apuntan a que pueden además estar implicadas en los sistemas de coagulación y proPO (Sánchez-Salgado *et al.*, 2017). Se describió una nueva CTL en *M. japonicus*, la cual juega un importante papel en la inmunidad antibacterial de camarones, por directa activación de la vía de señalización de JAK/STAT que regula las concentraciones de AMPs (Sun *et al.*, 2017). *LvCTL5* regula la expresión de varios de genes que codifican para efectores en el sistema inmune en la actividad fagocítica de hemocitos en *P. vannamei* (Luo *et al.*, 2019). En *P. vannamei*, la microscopía de fluorescencia de los hemocitos reveló la participación de su lectina (*LvGal*) en la fagocitosis (Hou *et al.*, 2015).

Péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos (AMP) están ampliamente distribuidos en todos los organismos vivos, como componentes importantes del sistema inmunológico innato, y actúan como una primera línea de defensa contra los microorganismos invasores (Brown y Hancock, 2006; Hancock *et al.*, 2006). Estos péptidos exhiben un gran espectro de actividad frente a bacterias tanto gram negativas como gram positivas, contra levaduras, hongos pluricelulares, virus e incluso tumores. Algunos tienen actividad microbicida en *in vitro*, pero otros muestran una función en la propia regulación del sistema inmune (Brown y Hancock, 2006). A la fecha numerosos AMPs de camarones peneidos descritos en bibliografía están reportados de manera sistemática en la fuente de ***PenBase***, donde se desarrolla una propuesta para su caracterización, clasificación y nomenclatura. La mayor parte de los AMP se pueden agrupar en tres familias principales de péptidos catiónicos: las peneidinas, crustinas y los factores antilipopolisacáridos. Análisis de secuencia de cada familia de AMPs reveló la agrupación en múltiples clases, isoformas y subgrupos (Gueguen *et al.*, 2006).

Los AMPs son primeramente sintetizados en los hemocitos y luego liberados en respuesta a la presencia de patógenos (Tassanakajon *et al.*, 2011). Las dos principales vías de activación de síntesis de AMPs en camarones son la vía Toll y la vía Imd. Estas dos vías de señalización distintas regulan la expresión de diferentes conjuntos de AMP (Tanji y Ip, 2005). También pueden actuar en paralelo en respuesta a diferentes tipos de microorganismos (Fuhua Li y Xiang, 2013).

Crustinas

Las crustinas se encuentran distribuidas fundamentalmente en dos clases de crustáceos: Pleocyemata y Dendrobranchiata (Smith *et al.*, 2008). El dominio WAP que contienen tiene diversas funciones, pero principalmente inhiben proteasas y otras actividades antimicrobianas (Tassanakajon *et al.*, 2015). Existen evidencias que indican que las crustinas pueden participar en otros procesos fisiológicos como reguladoras de la inmunidad, en la recuperación post-estrés y los traumas (Smith *et al.*, 2008).

Peneidinas

Las peneidinas poseen un peso molecular entre 5 y 7 kDa. (Smith *et al.*, 2008). Las peneidinas se activan contra las bacterias Gram positivas, y en altas concentraciones tienen algún efecto sobre los hongos (Li *et al.*, 2005). Muchos trabajos demuestran que las peneidinas también están relacionadas con el proceso de aglutinación de bacterias (Cuthbertson *et al.*, 2008). Muñoz y colaboradores (2002) sugieren que las peneidinas quizás estén involucradas en la señalización de moléculas extrañas, u opsonización, para su posterior eliminación mediante la fagocitosis.

Factores antilipopolisacáridos

Los factores antilipopolisacáridos (ALF) se encuentran no solo en el cangrejo herradura o el camarón, sino también en varios crustáceos (Tassanakajon *et al.*, 2015). Recientemente, la secuenciación profunda, proporcionó información sobre la diversidad de ALF en camarones (Tassanakajon *et al.*, 2018). Según la estructura 3D de ALF, se cree que el LPS-BD es el único responsable de la actividad biológica de ALF. El LPS-BD presenta como un dominio funcional con actividades antimicrobianas y antivirales (Jiang *et al.*, 2015;).

Estilicina

Las estilicina es la única familia de AMP aniónicos identificados en camarones y bivalvos. Los miembros de la familia de la estilicina son limitados en comparación con otras familias de AMP. Existen informes de las estilicinas en *L. stylirostris*, *P. vannamei*, *P. monodon* y *M. japonicus* (Rolland *et al.*, 2010). La Ls-Stylicin1 recombinante (rLs-Stylicin1) en forma monomérica o dimérica exhibe una escasa actividad antimicrobiana contra *V. penaeicidae*, pero tiene un efecto bacteriostático a través de la interacción con LPS de *V. penaeicidae*. Además, muestra una fuerte actividad de Ls-Stylicin1 contra el hongo filamentoso patógeno del camarón, *Fusarium oxysporum* (Rolland *et al.*, 2010).

α2- macroglobulina

La α 2-macroglobulina (α 2M), es una proteínasa de alta masa molecular. La α 2M de *P. vannamei* posee actividad inhibitoria sobre un amplio espectro de proteinasas (Gollas-Galván *et al.*, 2003). Estas proteínas realiza actividades de opsonización contra patógenos invasores mediando la endocitosis y degradación de los complejos α 2M -proteinasas (Ho *et al.*, 2009). α 2M está implicada con la actividad inhibidora en la prevención y restauración de los daños causados por las proteasas exógenas cuando el organismo es infectado por un agente patógeno; así como en la regulación de la activación del sistema proPO (Cerenius y Söderhäll, 2004). Su expresión en crustáceos es principalmente en hemocitos (Deachamag *et al.*, 2006) . Se demostró su inducción y una alta expresión del mRNA de la α 2M en camarones kuruma alimentados con peptidoglicanos (PG) y lipopolisacáridos (LPS) (Rattanachai *et al.*, 2004); así como en *P. monodon* después del desafío con PG y con WSSV (Lin *et al.*, 2007)..

Peroxinectinas.

Las peroxinectinas actúan como un factor de adhesión celular. Se purificaron primeramente a partir del langostino *P. leniusculus* y están bien identificadas en *P. vannamei*. Las peroxinectinas se sintetizan en los hemocitos granulados y semi-granulados en forma inactiva (Liu *et al.*, 2005) y son liberadas a la hemolinfa a través de exocitosis en respuesta a estímulos producto de la invasión de patógenos (Smith *et al.*, 2003). Las peroxinectinas poseen varias actividades biológicas entre las que podemos citar: activación del sistema proPO, adhesión y degranulación de los hemocitos, promotora de la encapsulación, opsonisante, actividad peroxidasa (Kallaya Sritunyalucksana y Söderhäll, 2000), así como una poderosa actividad antibacteriana (Nappi y Ottaviani, 2000).

Otras proteínas de reconocimiento

Diversas moléculas de reconocimiento están aisladas y caracterizadas en crustáceos, entre ellas están las proteínas de unión a 1,3-P-glucanos (PGBP) (Vazquez *et al.*, 2009), las proteínas de unión a lipopolisacáridos (LPS-BP) (Ponprateep *et al.*, 2009) y las proteínas de reconocimiento de peptidoglicanos (PG-RP). Se demostró que el receptor PGBP interviene en algunos procesos de infección viral en camarón *P. vannamei*, lo que demuestra su intervención en procesos inmunológicos (Li *et al.*, 2007). Las PGBP de los camarones está involucrada en la activación del sistema proPO (Vargas-Albores y Yepiz-Plascencia, 2000). Las LPS-BP tienen alta afinidad en el reconocimiento de la pared celular de bacterias Gram negativas y son inducibles durante daños en los tejidos y por la invasión de agentes patógenos (García-García *et al.*, 2009).

Reconocimiento de ácidos nucleicos virales

El reconocimiento de ácidos nucleicos virales activa tanto las vías de reconocimiento específico como no específico en invertebrados. Los ARN de interferencias forman parte de un mecanismo de regulación postranscripcional de silenciamiento génico que depende de pequeños ARN no codificantes de 21 a 31 nucleótidos. Estos se clasifican en tres grupos según el mecanismo de acción: los siARNs (ARN interferente pequeño), los miARNs (microARN) y los piARNs (ARNs asociados a Piwi) (Wang y He, 2019).

Los crustáceos tienen un sistema de siARN similar al de los insectos, así, la Dicer-1 es altamente similar a Dicer de la mayoría de los insectos, así como Dicer 2 de camarones es igualmente similar a la Dicer 2 de insectos (Chen et al., 2011; He *et al.*, 2015). Un número creciente de proteínas relacionadas con los ARN interferentes, como la familia de proteínas Ago, las Ars2, TRBP, Drosha, Pasha y SID-1 están informadas en camarones (He *et al.*, 2015). El ARN pueden ser regulado por inyección e infección de virus (Chen *et al.*, 2011) Los miARNs como miR-100, están involucradas el defensa contra la infección viral. Varios reportes describen como la inyección de dsARNs o siARNs virales inhiben la replicación de virus, incluidos: el virus de la mancha blanca (WSSV), virus de síndrome Taura (TSV), virus de la mionecrosis (IMNV), virus de la cabeza negra (YHV) y los densovirus de *Peneaus monodon* (pmDNV) (Attasart *et al.*, 2011; He *et al.*, 2015; T. Ho *et al.*, 2011; Loy *et al.*, 2012; Robalino et al., 2005; Tirasophon *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007). Algunos microARNs muestran jugar roles críticos en la regulación del proceso fagocítico en crustáceos. En hemocitos de *M. japonicus*, miR-1 regula negativamente la actividad fagocítica a través de la interacción con la región no traducida 3' de la cadena pesada del gen 1 de la clatrina (CLTC1) (Cuilian Liu *et al.*, 2014; Wang y He, 2019). Hasta la fecha los crustáceos carecen de piARN que están relacionados con virus (Chengzhang Liu *et al.*, 2016).

Citocinas en Camarón

El primer informe que afirma pruebas concluyentes de un gen del ligando de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNFSF) en camarones se produjo en 2010 (Mekata *et al.*, 2010). Y los genes TNFSF y TNFRSF, junto con un factor TNF- α inducido por LPS (LITAF), se aislaron y caracterizaron en *P. vannamei* (Wang *et al.*, 2012). Por otra parte, el primer gen de invertebrado similar a la IL-16 tiene una regulación positiva significativa de la expresión del gen de IL-16 después de la estimulación con LPS; y un aumento significativo de la mortalidad de los camarones infectados con *Vibrio* después de la supresión de IL-16, lo que indica un posible papel importante de sus efectos inmunomoduladores en este invertebrado (Liang *et al.*, 2017).

Los crustáceos también poseen moléculas similares a los interferones (IFN), como agentes efectores de la actividad antiviral. Recientemente, de este tipo de citocinas, se reportó un nuevo factor de regulación de interferones (IRF), el cual regula la expresión del gen Vago, una citocina antiviral en artrópodos (Li *et al.*, 2015). Algunos receptores tipo *Toll* reconocen señales PAMPs como dsDNA, y transducen para la expresión de IRFs y consecuentemente para las citocinas, Vago 4 y Vago 5, que, a través de receptores de membrana, potencian la expresión de varias proteínas antivirales (Guanzon y Maningas, 2018). La existencia de una vía de señalización para reconocer ADN viral y su interacción con un activadores de la vía de IFR, con sus consecuentes vías de señalización intracelular se demostró también en camarones (Kulkarni *et al.*, 2021; Soponpong *et al.*, 2018, 2019).

Respuesta celular

Los crustáceos presentan un sistema circulatorio abierto donde nutrientes, oxígeno, hormonas y células son distribuidos en la hemolinfa. Los hemocitos son las células circulantes de la hemolinfa que cumplen una función análoga a la que desempeñan los leucocitos en vertebrados, o

sea, los protagonistas de la respuesta celular del sistema inmune. En esos animales, los hemocitos no solo participan en la inmunidad celular, sino también en la inmunidad humoral a través del almacenamiento y liberación de factores inmunes. Entre sus funciones destacan: la fagocitosis, inicio de la melanización, remoción de partículas extrañas en la hemolinfa mediante la encapsulación y formación de agregados nodulares saneamiento y cicatrización de heridas o laceraciones mediante la agregación celular y la iniciación del proceso de coagulación y la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) (Chen y Kang, 2021). Además, están involucrados indisolublemente con la respuesta humoral en la síntesis y descarga en la hemolinfa de los mediadores moleculares que protagonizan dicha respuesta y que la mayoría de ellos descritos anteriormente: aglutininas, factores y proteínas de la coagulación, lectinas, péptidos antimicrobianos, $\alpha 2M$, peroxinectinas, lisozimas, y los componentes del sistema proPO (Ho *et al.*, 2009; Lamela *et al.*, 2005).

Los hemocitos se dividen tradicionalmente en tres tipos morfológicos según el teñido de los gránulos intracelulares, establecido por Bauchau en 1981 (Bauchau, 1981). Primeramente, los hemocitos fueron clasificados en hemocitos poco granulares, hemocitos granulares y hemocitos agranulares (Hose *et al.*, 1987), luego su clasificación cambió a: hemocitos hialinos, hemocitos semigranulares y hemocitos granulares (Jeyachandran *et al.*, 2020). Esta clasificación se basa en el tamaño de los hemocitos, la relación núcleo/citoplasma (N/C) y el número orgánulos intracelulares granulares. Algunos marcadores moleculares permiten diferenciar entre hemocitos granulares y hemocitos semigranulares, entre ellos, altos niveles de expresión de superóxido dismutasa (SOD) se asocian a los hemocitos granulares y la presencia del inhibidor de dos dominios de la proteinasa de Kazal se asocia con los hemocitos semigranulares (B. Wang *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2008). Recientemente, Sun y colaboradores identificaron la expresión de determinados genes relacionados con el sistema inmune en cada subpoblación, entre ellos los genes relacionadas a la expresión de crustinas, beta-tubulinas y arrestinas (Sun *et al.*, 2020).

Sin embargo, no fue hasta 2021 que con las técnicas de marcaje molecular y caracterización por la plataforma *custom-built Drop-seq* se obtuvo una clasificación precisa de los hemocitos, identificándose 9 subpoblaciones (nombradas desde Hem1-Hem9, a través de la tecnología *single-cell mRNA sequencing (scRNA-seq)*). Koiwai y colaboradores (2021) sugieren funciones para cada subpoblación, y genes claves en la diferenciación de las subpoblaciones. Los autores describen 4 subpoblaciones adultas (Hem9, Hem8, Hem7 y Hem5) identificadas e incluidas todas dentro de la anterior categoría morfológica de granulocitos. (Koiwai *et al.*, 2021).

Los hemocitos se originan en el tejido hematopoyético del cefalotórax de los camarones. Se conoce que el número de hemocitos varía con el ciclo de muda (Liu y Chen, 2004). Durante las infecciones la cantidad de hemocitos circulantes en la hemolinfa disminuye drásticamente debido a que migran a ciertos compartimentos en los tejidos, principalmente a los lugares de infección, donde se diferencian y no pueden luego ser reconocidos como hemocitos libres circulantes. Los hemocitos se encuentran en altas concentraciones en las branquias y el tracto digestivo, donde la

interacción con el medio externo es alta y la protección inmunológica muy importante (Burge *et al.*, 2007; Lamela *et al.*, 2005).

Fagocitosis

Los fagocitos son los hemocitos que tienen la capacidad de reconocer y destruir mediante el proceso de fagocitosis una gran variedad de microorganismos y partículas tales como bacterias, esporas y células envejecidas propias del organismo. Durante este proceso se origina el fagolisosoma, y en él se liberan sustancias líticas como lisozimas, elastasas, peroxidasas, óxido nítrico (NO) y especies reactivas del oxígeno (ROS) (Mydlarz *et al.*, 2006).

Los fagocitos de crustáceos se pueden encontrar en la hemolinfa o sobre la superficie de las arteriolas del hepatopáncreas y en las branquias (Iwanaga y Lee, 2005). Entre las especies de invertebrados, las capacidades fagocíticas varían en dependencia del tipo de hemocito, así como del patógeno a fagocitar. Frente a bacterias como *E. coli* los hemocitos granulares y los hemocitos semigranulares mostraron una mayor capacidad fagocítica, mientras que frente a virus como WSSV los hemocitos semigranulares mostraron una mayor capacidad fagocítica en *C. quadricarinatus* (Fang Li *et al.*, 2018). Esta diversidad apunta a sugerir sobre la diversidad evolutiva dentro de los hemocitos de los crustáceos (Liu *et al.*, 2020) y a la necesidad de profundizar en parámetros moleculares frente a los morfológicos para distinguir entre las subpoblaciones de hemocitos.

Los receptores en la superficie de los hemocitos, como lectinas, receptores *scavenger* (SR), proteínas con dominios de inmunoglobulinas y proteínas con dominios de fibrinógenos intervienen en la fagocitosis en la lucha contra patógenos como mediadores del reconocimiento y fagocitosis de patógenos (Wang y Wang, 2013). Aparte de las CTL descritas en la respuesta humoral, en la respuesta celular también intervienen otras lectinas las LTL y galectinas como importantes opsoninas que promueven la fagocitosis contra bacterias y virus en crustáceos. (Hou *et al.*, 2015). Los SR generalmente median la fagocitosis de patógenos no opsónicos mediante el reconocimiento de PAMP, incluidos LPS y ácido lipoteicoico (LTA) (Liu *et al.*, 2020). El otro tipo de receptor identificado como mediador de la fagocitosis en crustáceos son los FREP (proteínas con dominios de fibrinógeno). Estas moléculas pertenecen al grupo de los PRRs se unen a LPS y a peptidoglicano (Sun *et al.*, 2014).

Después del recubrimiento con opsonina y el reconocimiento de los patógenos por los receptores fagocíticos relacionados, se desencadenará una serie de eventos de señalización para iniciar la fagocitosis y darán como resultado la remodelación del citoesqueleto de actina para producir pseudópodos de membrana para internalizar el patógeno para formar fagosomas (Pauwels *et al.*, 2017). Luego, los fagosomas se fusionan gradualmente con los endosomas tempranos y tardíos y finalmente se fusionan con el lisosoma para generar fagolisosomas. La mejor entendida de las rutas de señalización se encuentra descrito en las lectinas tipo C en crustáceos a través de RhoA, Rock2 y Arp2/3. Sugiriendo a Ran/miosina y Rab6 como posibles intermediarios de los restantes receptores de hemocitos (Liu *et al.*, 2020).

Encapsulación

La encapsulación es un proceso multicelular que tiene como objetivo la eliminación de partículas foráneas y agentes patógenos que no pueden ser destruidos por los mecanismos humorales. Este proceso de eliminación impide la movilidad y el crecimiento de los mismos en la hemolinfa (Bouallegui, 2021).

A través del análisis histoquímico se demostró que aquellos hemocitos que participan en los procesos de encapsulación presentan glicoproteínas y mucopolisacáridos ácidos o neutros. La destrucción de los organismos encapsulados ocurre de dos formas: una por la disminución de la concentración de oxígeno (hipoxia) y la acción de las hidrolasas, y segundo por la actividad tóxica de las quinonas y otras especies bioactivas que liberan los propios hemocitos (Vazquez *et al.*, 2009).

Especies reactivas del oxígeno (ROS)

Diversas investigaciones realizadas acerca del sistema inmune de los crustáceos se basan en la comprensión de las funciones de los hemocitos en la capacidad de generar una respuesta oxidativa como son las ROS y el Óxido nítrico (NO) (Shimizu *et al.*, 2006). Varias ROS como radical hidroxilo (*OH), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y anión superóxido (O^-) se producen durante la fagocitosis (Munoz *et al.*, 2000). Tras el contacto con un patógeno los hemocitos activan el sistema de la NADPH oxidasa a través del cual se generan las ROS, que en combinación con las hipohalidas y las halidaminas, generadas por las peroxidases, ejercen un efecto citotóxico (Roch, 1999).

La producción de ROS, proceso también conocido como “estallido respiratorio”, juega un papel importante en la actividad microbicida (Campa-Córdova *et al.*, 2005). Al inmunoestimular camarones *P. monodon*, *P. vannamei*, *L. stylirostris* y langostino *M. rosenbergii* con LPS y 1,3 (S-glucanos, aumentaron la fagocitosis y la producción de ROS (Soria *et al.*, 2006). Por otra parte, las defensas enzimáticas antioxidantes incluyen ascorbato de peroxidasa, glutatión reductasa, catalasas y peroxidases, las cuales eliminan eficientemente el H_2O_2 . El sistema antioxidante se utiliza frecuentemente como indicador potencial de estrés oxidativo en organismos marinos (Campa-Córdova *et al.*, 2005). Descubrimientos relacionados con la actividad celular de la SOD demuestran que esta juega un importante papel como modulador de la respuesta inmune (Matsuda *et al.*, 2003). Esta distribución está estrechamente relacionada con la función antioxidante y los lugares donde ocurre en mayor medida el estallido respiratorio, lo que confirma su papel en la prevención y eliminación del daño oxidativo (Wang *et al.*, 2007).

Peroxidasas

La actividad peroxidasa está estrechamente relacionada con la generación y eliminación de las ROS generadas durante el metabolismo oxidativo de las mitocondrias y durante la fagocitosis de partículas extrañas y la actividad citotóxica contra tipos celulares foráneos que invaden el organismo; por lo que se le confiere además función inmunitaria (Kallaya Sritunyalucksana y Söderhäll, 2000). En el camarón *P. schmitti* se reportaron valores de actividad enzimática

peroxidasa superiores en el interior de los hemocitos con respecto a los encontrados en la hemolinfa (Sritunyalucksana *et al.*, 2001). La peroxinectina, proteína descrita anteriormente, posee un dominio funcional peroxidasa, por lo que la actividad peroxidasa incluye y está estrechamente asociada a la actividad peroxinectina (Jiravanichpaisal *et al.*, 2006).

Lisozimas

Las lisozimas se incluyen dentro de la familia de los péptidos antibacterianos sobre la base de su bajo peso molecular y su poderoso efecto bacteriostático que es además inespecífico. Ejercen su función por la hidrólisis de los enlaces glucosídicos que están vinculados con la pared celular bacteriana (Sotelo-Mundo *et al.*, 2003). Estas proteínas se sintetizan específicamente en hemocitos, principalmente los granulares. Además, están bien caracterizadas en los camarones Peneidos, donde tienen actividad lítica contra un amplio número de especies de bacterias Gram negativas y Gram positivas, entre ellas las patogénicas *Vibrio* spp. (De-La-Re-Vega *et al.*, 2006). Cuando los hemocitos son reclutados rápidamente a los sitios de infección, descargan las lisozimas junto al resto de los efectores inmunológicos como péptidos antimicrobianos, transglutaminasas, entre otros (Burge *et al.*, 2007).

Sistema pro-fenoloxidasa (proPO)

El sistema proPO es una compleja cascada enzimática que juega un papel central en el sistema inmune de los crustáceos (Rodríguez y Le Moullac, 2000). En la cascada la Enzima Activadora de la proPO (PPAE) procesa al zimógeno y rinde la enzima activa PO. La PO es una proteasa de tipo metalo, dependiente de Cu, que cataliza múltiples reacciones: producción de quinonas, fenoles orto-hidroxilados, L-DOPA, L-DOPA quinona y melanina. La PO de diversos crustáceos cataliza reacciones tipo tirosinasas como: hidroxilación de monofenoles y oxidación de o-difenoles a quinonas; y no son proteínas integrales de membranas de un organelo específico (Lamela *et al.*, 2005; Vazquez *et al.*, 2009). El resultado final de todas las reacciones es la formación de metabolitos tóxicos y con actividad antimicrobiana. Las quinonas y fenoles están involucrados en la obtención de varios metabolitos citotóxicos como superóxidos y radicales hidroxilos, así como en el entrecruzamiento covalente de moléculas cercanas para formar la melanina en los sitios afectados y alrededor de los organismos invasores (Charoensapsri *et al.*, 2009). La disminución de PO está estrechamente relacionada con un estado de inmunodepresión, sin embargo, en condiciones fisiológicas esta enzima se incrementa ante infecciones provocadas por virus y bacterias (Lamela *et al.*, 2005). La actividad PO constituye un indicador que se toma como referencia para analizar el estado inmunológico de los crustáceos (R. Wang *et al.*, 2001).

Respuesta inmune entrenada

Por varios años de investigación se pensó que el sistema inmune de los crustáceos carece de cualquier forma de memoria inmunológica análoga a la de los vertebrados. Sin embargo, estudios detallados sobre el sistema inmunológico de crustáceos e insectos demuestran que existe una forma simplificada de memoria inmunológica, la respuesta entrenada inmune (Amatul-Samahah *et al.*, 2020) proteínas virales recombinantes (Vaseeharan *et al.*, 2006) y bacterias inactivadas

(Vinay *et al.*, 2019). Entre los posibles mecanismos de esta respuesta se encuentran los relacionados con la epigenética y los receptores DSCAM (Roy *et al.*, 2020).

Moléculas de adhesión celular de Síndrome de Down (Dscam)

Aun cuando en invertebrados no se reconocen moléculas homólogas a los anticuerpos de vertebrados, miembros también de la familia de las inmunoglobulinas, como las moléculas de adhesión celular del síndrome de Down (Dscams), muestran muchas propiedades de reconocimiento específico similar. Los anticuerpos y las Dscams son proteínas de elevado peso molecular, aproximadamente de 180 a 220 kDa, con regiones hipervariables, originadas por mecanismos de splicing alternativo (Wenshi Li *et al.*, 2017). Igual que muchos anticuerpos, las Dscams poseen dos formas de presentación, una soluble y una con dominio integral de membrana (Ng y Kurtz, 2020).

Las regiones hipervariables de las moléculas se encuentran en regiones extracelulares, donde presentan dominios de inmunoglobulinas Ig2, Ig3 e Ig7. A través de las regiones hipervariables, se desarrolla el reconocimiento específico de patógenos. También, de manera similar a los anticuerpos, los Dscams solubles en la hemolinfa funcionan como agentes opsonisantes, capaces de atraer y potenciar la capacidad fagocítica de los hemocitos (Weiwei Li y Wang, 2020). Existen más de 8000 isoformas únicas de Dscam en *P. vannamei* con posible capacidad para reconocer un amplio rango de patógenos específicos (Liu *et al.*, 2020). La determinación completa de la estructura del gen Dscam en *P. monodon* se demostró que el splicing alternativo puede generar, en teoría, 21 000 000 de isoformas diferentes de Dscam. Por otra parte, también se demostró la existencia de 384 isoformas de la región intracelular de Dscam, con motivos altamente conservados, que participan en la señalización para la expresión de varios péptidos antimicrobianos (Li *et al.*, 2019).

La persistencia y aumento de las Dscams requiere de una base celular que permita la síntesis específica de las Dscam y que se autoperpetúe en el tiempo. Y, además, que conlleve a un mecanismo similar a la expansión clonal de los linfocitos en los vertebrados. Los estudios sobre esta base celular estudios hasta el día son insuficientes, de allí que el mecanismo por el cual acontece el desarrollo de la memoria inmunológica de invertebrados, a través de Dscam, permanece siendo meras especulaciones (Low y Chong, 2020).

Epigenética e inmunidad transgeneracional

La Epigenética se refiere a modificaciones no genéticas en la expresión y función de los genes, sin cambios en la secuencia de ADN. Esto incluye la remodelación de la cromatina a través de varios mecanismos como la metilación de ADN/ARN, modificaciones de histonas, ncRNA, RNAi y muchos otros (Berger *et al.*, 2009). Más reciente, las modificaciones epigenéticas se consideran como uno de los mecanismos posibles detrás de la inmunidad entrenada en camarones (Roy *et al.*, 2020). La inmunidad transgeneracional (*Trans-generational immunity priming*, TGIP) es definida como la inmunidad transferida de progenitores a la progenie, jugando un rol vital en la protección de las larvas en los estadios tempranos de la vida de la progenie (Wang *et*

al., 2015). Entre los estudios desarrollados en este tipo de inmunidad se encuentran los desarrollados en *Daphnia magna* (Little *et al.*, 2003) en moluscos (Wang *et al.*, 2015) y en insectos (Dhinaut *et al.*, 2018).

En estudios desarrollados en *Artemia* como organismo modelo para camarones, se demostró la transferencia de inmunidad a *Vibrio campbellii*, de los progenitores a la descendencia (Norouzitallab *et al.*, 2015, 2016). Por otra parte, (Roy *et al.*, 2019), con *Artemia* también demostraron que la exposición de moléculas inductoras de choque térmico protegió a la subsecuentes tres generaciones contra *Vibrio campbellii* y *V. parahaemolyticus*. Sin embargo, aunque la epigenética podría jugar un rol significativo en la memoria inmune en camarones, se necesita un mayor estudio para revelar los mecanismos moleculares detrás de este fenómeno (Roy *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Con el desarrollo de nuevas tecnologías de procesamiento de muestras y la inclusión de información en bases de datos, la comprensión del sistema inmune del camarón, logra grandes avances en cuestión de pocos años. Tecnologías como *Single-cell RNA seq por Drop seq*, para el análisis de parámetros inmunológicos celulares y la utilización de programas bioinformáticos para análisis de grandes cantidades de datos para la identificación, caracterización y modelación de nuevas moléculas aumentan la disponibilidad de la información. Sin embargo, concluimos sobre el avance en la comprensión sobre la complejidad que muestra el sistema inmune del camarón, y como este fue subvalorado en revisiones anteriores.

Hoy dada la gran cantidad de investigaciones que se desarrollan, en temas de inmunología avanzada aplicados en parámetros inmunológicos del camarón, podemos confirmar que la comunidad científica especializada en acuicultura, sigue la vertiente de profundización sobre los posibles mecanismos que median la respuesta entrenada, moléculas inmunoestimulantes propias de camarón (como citocinas) y el mecanismo que potencia en el reconocimiento de ácidos nucleicos virales. Estos estudios contribuirán considerablemente en la forma que se desarrolla el cultivo del camarón, y parece ser prometedores como solución ante las crecientes afecciones que surgen en el cultivo intensivo del camarón.

Destacamos que la mayoría de la información presente se encuentra informada en condiciones controladas, y que sería útil el desarrollo de investigaciones en condiciones de cultivo, con vistas al entendimiento de cómo se afecta la respuesta inmune y las principales deficiencias de la misma. A pesar de que existe mucha bibliografía sobre el sistema inmune del camarón, comparado con otros invertebrados, la mayoría de los mecanismos de la respuesta inmune quedan por dilucidar. De allí, que, con los avances en las técnicas de análisis de secuencia y marcadores de expresión, y otras puedan contribuir a un mejor entendimiento del sistema inmune de camarones peneidos y el surgimiento de nuevas técnicas de cultivo que contribuyan a incrementar

de manera sostenible a producción de camarón frente a las pandemias virales que afectan al mundo hoy.

REFERENCIAS

- Aguirre Guzman, G., & Ascencio Valle, F. (2000). Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. *Recent Research Developments in Microbiology*, 333–348. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=14574056>
- Alpuche, J., Pereyra, A., Agundis, C., Rosas, C., Pascual, C., Slomianny, M. C., Vázquez, L., & Zenteno, E. (2005). Purification and characterization of a lectin from the white shrimp *Litopenaeus setiferus* (Crustacea decapoda) hemolymph. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1724(1–2), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.04.014>
- Amatul-Samahah, M. A., Omar, W. H. H. W., Ikhsan, N. F. M., Azmai, M. N. A., Zamri-Saad, M., & Ina-Salwany, M. Y. (2020). Vaccination trials against vibriosis in shrimp: A review. *Aquaculture Reports*, 18, 100471. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100471>
- Ariki, S., Koori, K., Osaki, T., Motoyama, K., Inamori, K. I., & Kawabata, S. I. (2004). A serine protease zymogen functions as a pattern-recognition receptor for lipopolysaccharides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(4), 953–958. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306904101>
- Attasart, P., Kaewkhaw, R., Chimwai, C., Kongphom, U., & Panyim, S. (2011). Clearance of *Penaeus monodon* densovirus in naturally pre-infected shrimp by combined ns1 and vp dsRNAs. *Virus Research*, 159(1), 79–82. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.05.001>
- Bauchau, A. G. (1981). Crustaceans. *Invertebrate Blood Cells*, 2, 385–420. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10019209126/>
- Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhatar, R., & Shilatifard, A. (2009). An operational definition of epigenetics. *Genes & Development*, 23(7), 781–783. <http://genesdev.cshlp.org/content/23/7/781.short>
- Bouallegui, Y. (2021). A Comprehensive Review on Crustaceans' Immune System With a Focus on Freshwater Crayfish in Relation to Crayfish Plague Disease. *Frontiers in Immunology*, 12, 1753. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667787>
- Brown, K. L., & Hancock, R. E. (2006). Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Current opinion in immunology*, 18(1), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2005.11.004>
- Burge, E. J., Madigan, D. J., Burnett, L. E., & Burnett, K. G. (2007). Lysozyme gene expression by hemocytes of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after injection with *Vibrio*. *Fish & Shellfish Immunology*, 22(4), 327–339. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.06.004>
- Campa-Córdova, A. I., Hernández-Saavedra, N. Y., Aguirre-Guzmán, G., & Ascencio, F. (2005).

- Respuesta inmunomoduladora de la superóxido dismutasa en juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) expuestos a inmunoestimulantes. *Ciencias Marinas*, 31(4), 661–669. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802005000500006&script=sci_arttext
- Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N., & Chim, L. (2009). Effect of dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress status of shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 294(3–4), 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.016>
- Cerenius, L., & Söderhäll, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 198(1), 116–126. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x>
- Chang, C. C., Chang, H. C., Liu, K. F., & Cheng, W. (2016). The known two types of transglutaminases regulate immune and stress responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 59, 164–176. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.02.003>
- Charoensapsri, W., Amparyup, P., Hirono, I., Aoki, T., & Tassanakajon, A. (2009). Gene silencing of a prophenoloxidase activating enzyme in the shrimp, *Penaeus monodon*, increases susceptibility to *Vibrio harveyi* infection. *Developmental & Comparative Immunology*, 33(7), 811–820. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2009.01.006>
- Chen, Q., & Kang, C. (2021). Advancements in the study of the classification and immune function of shrimp hemocytes. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao= Chinese Journal of Biotechnology*, 37(1), 53–66. <https://europepmc.org/article/med/33501789>
- Chen, Y. H., Jia, X. T., Zhao, L., Li, C. Z., Zhang, S., Chen, Y. G., Weng, S. P., & He, J. G. (2011). Identification and functional characterization of Dicer2 and five single VWC domain proteins of *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(6), 661–671. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.01.010>
- Cuthbertson, B. J., Deterding, L. J., Williams, J. G., Tomer, K. B., Etienne, K., Blackshear, P. J., Büllesbach, E. E., & Gross, P. S. (2008). Diversity in penaeidin antimicrobial peptide form and function. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(3), 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.06.009>
- De-La-Re-Vega, E., García-Galaz, A., Díaz-Cinco, M. E., & Sotelo-Mundo, R. R. (2006). White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) recombinant lysozyme has antibacterial activity against Gram negative bacteria: *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahemolyticus* and *Vibrio cholerae*. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(3), 405–408. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.06.005>
- De Gryse, G. M., Van Khuong, T., Descamps, B., Van Den Broeck, W., Vanhove, C., Cornillie, P., Sorgeloos, P., Bossier, P., & Nauwynck, H. J. (2020). The shrimp nephrocomplex

- serves as a major portal of pathogen entry and is involved in the molting process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(45), 28374-28383. <https://doi.org/10.1073/pnas.2013518117>
- Deachamag, P., Intaraphad, U., Phongdara, A., & Chotigeat, W. (2006). Expression of a Phagocytosis Activating Protein (PAP) gene in immunized black tiger shrimp. *Aquaculture*, 255(1-4), 165-172. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.010>
- Dhinaut, J., Chogne, M., & Moret, Y. (2018). Immune priming specificity within and across generations reveals the range of pathogens affecting evolution of immunity in an insect. *Journal of Animal Ecology*, 87(2), 448-463. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12661>
- FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018—Meeting the sustainable development goals*. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Flegel, T. W. (2019). A future vision for disease control in shrimp aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(2), 249-266. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jwas.12589>
- García-García, E., García-García, P. L., & Rosales, C. (2009). An fMLP receptor is involved in activation of phagocytosis by hemocytes from specific insect species. *Developmental & Comparative Immunology*, 33(6), 728-739. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.12.006>
- Gollas-Galván, T., Sotelo-Mundo, R. R., Yepiz-Plascencia, G., Vargas-Requena, C., & Vargas-Albores, F. (2003). Purification and characterization of α 2-macroglobulin from the white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 134(4), 431-438. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.12.006>
- Guanzon, D. A. V., & Maningas, M. B. B. (2018). Functional elucidation of LvToll 3 receptor from *P. vannamei* through RNA interference and its potential role in the shrimp antiviral response. *Developmental & Comparative Immunology*, 84, 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.01.020>
- Gueguen, Y., Garnier, J., Robert, L., Lefranc, M. P., Mougenot, I., De Lorgeril, J., Janech, M., Gross, P. S., Warr, G. W., Cuthbertson, B., Barracco, M. A., Bulet, P., Aumelas, A., Yang, Y., Bo, D., Xiang, J., Tassanakajon, A., Piquemal, D., & Bachere, E. (2006). PenBase, the shrimp antimicrobial peptide penaeidin database: sequence-based classification and recommended nomenclature. *Developmental & Comparative Immunology*, 30(3), 283-288. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.04.003>
- Hancock, R. E. W., Brown, K. L., & Mookherjee, N. (2006). Host defence peptides from invertebrates—emerging antimicrobial strategies. *Immunobiology*, 211(4), 315-322. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2005.10.017>
- He, Y., Ju, C., & Zhang, X. (2015). Roles of small RNAs in the immune defense mechanisms of crustaceans. *Molecular Immunology*, 68(2), 399-403. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.07.008>

- Hikima, S., Hikima, J. I., Rojtinnakorn, J., Hirono, I., & Aoki, T. (2003). Characterization and function of kuruma shrimp lysozyme possessing lytic activity against *Vibrio* species. *Gene*, 316, 187-195. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(03\)00761-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00761-3)
- Ho, P. Y., Cheng, C. H., & Cheng, W. (2009). Identification and cloning of the α 2-macroglobulin of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its expression in relation with the molt stage and bacteria injection. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(3), 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.01.007>
- Ho, T., Yasri, P., Panyim, S., & Udomkit, A. (2011). Double-stranded RNA confers both preventive and therapeutic effects against *Penaeus stylirostris* densovirus (PstDNV) in *Litopenaeus vannamei*. *Virus Research*, 155(1), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.09.009>
- Hose, J. E., Martin, G. G., Nguyen, V. A., Lucas, J., & Rosenstein, T. (1987). Cytochemical features of shrimp hemocytes. *The Biological Bulletin*, 173(1), 178–187. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/1541871>
- Hou, F., Liu, Y., He, S., Wang, X., Mao, A., Liu, Z., Sun, C., & Liu, X. (2015). A galectin from shrimp *Litopenaeus vannamei* is involved in immune recognition and bacteria phagocytosis. *Fish & Shellfish Immunology*, 44(2), 584–591. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.017>
- Iwanaga, S., & Lee, B. L. (2005). Recent advances in the innate immunity of invertebrate animals. *BMB Reports*, 38(2), 128–150. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2005.38.2.128>
- Jeyachandran, S., Park, K., Kwak, I. S., & Baskaralingam, V. (2020). Morphological and functional characterization of circulating hemocytes using microscopy techniques. *Microscopy research and technique*, 83(7), 736-743. <https://doi.org/10.1002/jemt.23463>
- Jiang, H. S., Zhang, Q., Zhao, Y. R., Jia, W. M., Zhao, X. F., & Wang, J. X. (2015). A new group of anti-lipopolysaccharide factors from *Marsupenaeus japonicus* functions in antibacterial response. *Developmental & Comparative Immunology*, 48(1), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.09.001>
- Jiravanichpaisal, P., Lee, B. L., & Söderhäll, K. (2006). Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology*, 211(4), 213–236. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2005.10.015>
- Kanost, M. R., Jiang, H., & Yu, X. Q. (2004). Innate immune responses of a lepidopteran insect, *Manduca sexta*. *Immunological reviews*, 198(1), 97-105. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.0121.x>
- Koiwai, K., Koyama, T., Tsuda, S., Toyoda, A., Kikuchi, K., Suzuki, H., & Kawano, R. (2021). Single-cell RNA-seq analysis reveals penaeid shrimp hemocyte subpopulations and cell differentiation process. *Elife*, 10, e66954. <https://elifesciences.org/articles/66954>

- Kulkarni, A., Krishnan, S., Anand, D., Kokkattunivarthil Uthaman, S., Otta, S. K., Karunasagar, I., & Kooloth Valappil, R. (2021). Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 431–459. <https://doi.org/10.1111/raq.12482>
- Labreuche, Y., Veloso, A., De La Vega, E., Gross, P. S., Chapman, R. W., Browdy, C. L., & Warr, G. W. (2010). Non-specific activation of antiviral immunity and induction of RNA interference may engage the same pathway in the Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(11), 1209–1218. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.06.017>
- Lamela, R. E. L., Silveira Coffigny, R., Quintana, Y. C., & Martínez, M. (2005). Phenoloxidase and peroxidase activity in the shrimp *Litopenaeus schmitti*, Pérez-Farfante and Kensley (1997) exposed to low salinity. *Aquaculture Research*, 36(13), 1293–1297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01344.x>
- Lee, S. Y., & Söderhäll, K. (2002). Early events in crustacean innate immunity. *Fish & Shellfish Immunology*, 12(5), 421–437. <https://doi.org/10.1006/fsim.2002.0420>
- Li, D. F., Zhang, M. C., Yang, H. J., Zhu, Y. B., & Xu, X. (2007). β -integrin mediates WSSV infection. *Virology*, 368(1), 122–132. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.06.027>
- Li, D., Wan, Z., Li, X., Duan, M., Yang, L., Ruan, Z., Wang, Q., & Li, W. (2019). Alternatively spliced down syndrome cell adhesion molecule (Dscam) controls innate immunity in crab. *Journal of Biological Chemistry*, 294(44), 16440–16450. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010247>
- Li, F., Chang, X., Xu, L., & Yang, F. (2018). Different roles of crayfish hemocytes in the uptake of foreign particles. *Fish & shellfish immunology*, 77, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.029>
- Li, F., & Xiang, J. (2013). Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp. *Fish & shellfish immunology*, 34(4), 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.08.023>
- Li, H., Chen, Y., Li, M., Wang, S., Zuo, H., Xu, X., Weng, S., He, J., & Li, C. (2015). A C-type lectin (LvCTL4) from *Litopenaeus vannamei* is a downstream molecule of the NF- κ B signaling pathway and participates in antibacterial immune response. *Fish & Shellfish Immunology*, 43(1), 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.024>
- Li, L., Wang, J.-X., Zhao, X.-F., Kang, C.-J., Liu, N., Xiang, J.-H., Li, F.-H., Sueda, S., & Kondo, H. (2005). High level expression, purification, and characterization of the shrimp antimicrobial peptide, Ch-penaeidin, in *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification*, 39(2), 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2004.09.006>
- Li, W., & Wang, Q. (2020). Recent progress in the research of exosomes and Dscam regulated crab antiviral immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, 103925. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103925>

- Li, W., Tang, X., Chen, Y., Sun, W., Liu, Y., Gong, Y., Wen, X., & Li, S. (2017). Characterize a typically Dscam with alternative splicing in mud crab *Scylla paramamosain*. *Fish & Shellfish Immunology*, *71*, 305–318. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.10.023>
- Liang, Q., Zheng, J., Zuo, H., Li, C., Niu, S., Yang, L., Yan, M., Weng, S.-P., He, J., & Xu, X. (2017). Identification and characterization of an interleukin-16-like gene from pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, *74*, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.04.011>
- Lin, Y. C., Vaseeharan, B., Ko, C. F., Chiou, T. T., & Chen, J. C. (2007). Molecular cloning and characterisation of a proteinase inhibitor, alpha 2-macroglobulin (α 2-M) from the haemocytes of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Molecular Immunology*, *44*(6), 1065–1074. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.08.002>
- Little, T. J., O'Connor, B., Colegrave, N., Watt, K., & Read, A. F. (2003). Maternal transfer of strain-specific immunity in an invertebrate. *Current Biology*, *13*(6), 489–492. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00163-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00163-5)
- Liu, C. H., & Chen, J. C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, *16*(3), 321–334. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00113-X)
- Liu, C. H., Cheng, W., & Chen, J. C. (2005). The peroxinectin of white shrimp *Litopenaeus vannamei* is synthesised in the semi-granular and granular cells, and its transcription is up-regulated with *Vibrio alginolyticus* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, *18*(5), 431–444. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.10.005>
- Liu, C., Li, F., Sun, Y., Zhang, X., Yuan, J., Yang, H., & Xiang, J. (2016). Virus-derived small RNAs in the penaeid shrimp *Fenneropenaeus chinensis* during acute infection of the DNA virus WSSV. *Scientific reports*, *6*(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/srep28678>
- Liu, C., Wang, J., & Zhang, X. (2014). The involvement of MiR-1-clathrin pathway in the regulation of phagocytosis. *PLoS One*, *9*(6), e98747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098747>
- Liu, H., Pizzano, S., Li, R., Zhao, W., Veling, M. W., Hu, Y., Yang, L., & Ye, B. (2020). isoTarget: a genetic method for analyzing the functional diversity of splicing isoforms in vivo. *Cell Reports*, *33*(6), 108361. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108361>
- Liu, S., Zheng, S. C., Li, Y. L., Li, J., & Liu, H. P. (2020). Hemocyte-mediated phagocytosis in crustaceans. *Frontiers in Immunology*, *11*, 268. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00268>
- Low, C. F., & Chong, C. M. (2020). Peculiarities of innate immune memory in crustaceans. *Fish & Shellfish Immunology*, *104*, 605-612. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.06.047>
- Loy, J. D., Mogler, M. A., Loy, D. S., Janke, B., Kamrud, K., Scura, E. D., Harris, D. L. H., &

- Bartholomay, L. C. (2012). dsRNA provides sequence-dependent protection against infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of General Virology*, 93(4), 880–888. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.038653-0?crawler=true>
- Luo, M., Yang, L., Wang, Z., Zuo, H., Weng, S., He, J., & Xu, X. (2019). A novel C-type lectin with microbiostatic and immune regulatory functions from *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 93, 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.047>
- Maningas, M. B. B., Koyama, T., Kondo, H., Hirono, I., & Aoki, T. (2008). A peroxiredoxin from kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*, inhibited by peptidoglycan. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(3), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.07.004>
- Masri, M., Sukmawaty, E., & Aditia, L. (2021). Novel chitinolytic bacteria from the shrimp shell processing waste. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220527>
- Matsuda, M., Yamori, T., Naitoh, M., & Okutani, K. (2003). Structural revision of sulfated polysaccharide B-1 isolated from a marine *Pseudomonas* species and its cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Marine Biotechnology*, 5(1), 13–19. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0046-5>
- Mekata, T., Sudhakaran, R., Okugawa, S., Inada, M., Kono, T., Sakai, M., & Itami, T. (2010). A novel gene of tumor necrosis factor ligand superfamily from kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(4), 571–578. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.12.020>
- Millard, R. S., Ellis, R. P., Bateman, K. S., Bickley, L. K., Tyler, C. R., van Aerle, R., & Santos, E. M. (2020). How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on White Spot Disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107369. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107369>
- Muñoz, M., Cedeño, R., Rodríguez, J., van der Knaap, W. P. W., Mialhe, E., & Bachère, E. (2000). Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 191(1–3), 89–107. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00420-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00420-8)
- Muñoz, M., Vandenbulcke, F., Saulnier, D., & Bachère, E. (2002). Expression and distribution of penaeidin antimicrobial peptides are regulated by haemocyte reactions in microbial challenged shrimp. *European Journal of Biochemistry*, 269(11), 2678–2689. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.02934.x>
- Mydlarz, L. D., Jones, L. E., & Harvell, C. D. (2006). Innate immunity, environmental drivers, and disease ecology of marine and freshwater invertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*,

37, 251–288.

<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110103>

Nappi, A. J., & Ottaviani, E. (2000). Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *Bioessays*, 22(5), 469–480. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200005\)22:5<469::AID-BIES9>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<469::AID-BIES9>3.0.CO;2-4)

Ng, T. H., & Kurtz, J. (2020). Dscam in immunity: a question of diversity in insects and crustaceans. *Developmental & Comparative Immunology*, 105, 103539. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103539>

Norouzitallab, P., Baruah, K., Biswas, P., Vanrompay, D., & Bossier, P. (2016). Probing the phenomenon of trained immunity in invertebrates during a transgenerational study, using brine shrimp *Artemia* as a model system. *Scientific Reports*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep21166>

Norouzitallab, P., Baruah, K., Muthappa, D. M., & Bossier, P. (2015). Non-lethal heat shock induces HSP70 and HMGB1 protein production sequentially to protect *Artemia franciscana* against *Vibrio campbellii*. *Fish Shellfish Immunol*, 42(2), 395–399. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.11.017>

Pauwels, A. M., Trost, M., Beyaert, R., & Hoffmann, E. (2017). Patterns, receptors, and signals: regulation of phagosome maturation. *Trends in Immunology*, 38(6), 407–422. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.03.006>

Peters, W. (2012). *Peritrophic membranes* (Vol. 30). Springer Science & Business Media.

Ponprateep, S., Somboonwiwat, K., & Tassanakajon, A. (2009). Recombinant anti-lipopolysaccharide factor isoform 3 and the prevention of vibriosis in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 289(3–4), 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.026>

Rattanachai, A., Hirono, I., Ohira, T., Takahashi, Y., & Aoki, T. (2004). Molecular cloning and expression analysis of α 2-macroglobulin in the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(5), 599–611. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.09.011>

Rendón, L., & Balcázar, J. L. (2016). Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. *Revista AquaTIC*, 19. <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/256>

Robalino, J., Bartlett, T., Shepard, E., Prior, S., Jaramillo, G., Scura, E., Chapman, R. W., Gross, P. S., Browdy, C. L., & Warr, G. W. (2005). Double-stranded RNA induces sequence-specific antiviral silencing in addition to nonspecific immunity in a marine shrimp: convergence of RNA interference and innate immunity in the invertebrate antiviral response? *Journal of Virology*, 79(21), 13561–13571. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.21.13561-13571.2005>

- Roch, P. (1999). Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. *Aquaculture*, 172(1–2), 125–145. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00439-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00439-6)
- Rodriguez, J., & Le Moullac, G. (2000). State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 191(1–3), 109–119. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00421-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00421-X)
- Rolland, J. L., Abdelouahab, M., Dupont, J., Lefevre, F., Bachère, E., & Romestand, B. (2010). Stylicins, a new family of antimicrobial peptides from the Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Molecular Immunology*, 47(6), 1269–1277. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.12.007>
- Roy, S., Bossier, P., Norouzitallab, P., & Vanrompay, D. (2020). Trained immunity and perspectives for shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2351–2370. <https://doi.org/10.1111/raq.12438>
- Roy, S., Kumar, V., Bossier, P., Norouzitallab, P., & Vanrompay, D. (2019). Phloroglucinol treatment induces transgenerational epigenetic inherited resistance against *Vibrio* infections and thermal stress in a brine shrimp (*Artemia franciscana*) model. *Frontiers in Immunology*, 10, 2745. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02745>
- Sahoo, P. K., Pillai, B. R., Mohanty, J., Kumari, J., Mohanty, S., & Mishra, B. K. (2007). Differential affinity of natural haemagglutinin of *Macrobrachium rosenbergii* towards vertebrate erythrocytes: Effect of sex, size and moult stage on haemagglutination titre. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/5324>
- Sánchez-Salgado, J. L., Pereyra, M. A., Agundis, C., Vivanco-Rojas, O., Sierra-Castillo, C., Alpuche-Osorno, J. J., & Zenteno, E. (2017). Participation of lectins in crustacean immune system. *Aquaculture Research*, 48(8), 4001–4011. <https://doi.org/10.1111/are.13394>
- Shimizu, N., Hosogi, N., Hyon, G.-S., Jiang, S., Inoue, K., & Park, P. (2006). Reactive oxygen species (ROS) generation and ROS-induced lipid peroxidation are associated with plasma membrane modifications in host cells in response to AK-toxin I from *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Journal of General Plant Pathology*, 72(1), 6–15. <https://doi.org/10.1007/s10327-005-0245-9>
- Smith, V. J., Brown, J. H., & Hauton, C. (2003). Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection? *Fish & Shellfish Immunology*, 15(1), 71–90. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(02\)00140-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00140-7)
- Smith, V. J., Fernandes, J. M. O., Kemp, G. D., & Hauton, C. (2008). Crustins: enigmatic WAP domain-containing antibacterial proteins from crustaceans. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(7), 758–772. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.12.002>
- Söderhäll, K., & Smith, V. J. (1983). Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenas* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution.

- Developmental & Comparative Immunology*, 7(2), 229–239.
[https://doi.org/10.1016/0145-305X\(83\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0145-305X(83)90004-6)
- Song, K. K., Li, D. F., Zhang, M. C., Yang, H. J., Ruan, L. W., & Xu, X. (2010). Cloning and characterization of three novel WSSV recognizing lectins from shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(4), 596–603.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.12.015>
- Soponpong, S., Amparyup, P., Kawai, T., & Tassanakajon, A. (2019). A cytosolic sensor, PmDDX41, binds double stranded-DNA and triggers the activation of an innate antiviral response in the shrimp *Penaeus monodon* via the STING-dependent signaling pathway. *Frontiers in Immunology*, 10, 2069.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02069/full>
- Soponpong, S., Amparyup, P., & Tassanakajon, A. (2018). A cytosolic sensor, PmDDX41, mediates antiviral immune response in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Developmental & Comparative Immunology*, 81, 291–302.
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.12.013>
- Soria, F., Sierra, C., Bouquelet, S., Brassart, C., Agundis, C., Zenteno, E., & Vázquez, L. (2006). The effect of sugars and free amino acids from the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* hemolymph on lectin activity and on oxidative burst. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 142(3–4), 212–219.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.10.003>
- Sotelo-Mundo, R. R., Islas-Osuna, M. A., De-la-Re-Vega, E., Hernández-López, J., Vargas-Albores, F., & Yepiz-Plascencia, G. (2003). cDNA cloning of the lysozyme of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 15(4), 325–331.
[https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(02\)00176-6](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00176-6)
- Sritunyalucksana, K., Wongsuebsantati, K., Johansson, M. W., & Söderhäll, K. (2001). Peroxinectin, a cell adhesive protein associated with the proPO system from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(5–6), 353–363. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00009-X)
- Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000). The proPO and clotting system in crustaceans. *Aquaculture*, 191(1), 53–70. www.vliz.be/imisdocs/publications/ocrd/33409.pdf
- Sun, J. J., Lan, J. F., Shi, X. Z., Yang, M. C., Yang, H. T., Zhao, X. F., & Wang, J. X. (2014). A fibrinogen-related protein (FREP) is involved in the antibacterial immunity of *Marsupenaeus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 39(2), 296–304.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.005>
- Sun, J. J., Lan, J. F., Zhao, X. F., Vasta, G. R., & Wang, J. X. (2017). Binding of a C-type lectin's coiled-coil domain to the Domeless receptor directly activates the JAK/STAT pathway in the shrimp immune response to bacterial infection. *PLoS Pathogens*, 13(9),

e1006626. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006626>

- Sun, M., Li, S., Zhang, X., Xiang, J., & Li, F. (2020). Isolation and transcriptome analysis of three subpopulations of shrimp hemocytes reveals the underlying mechanism of their immune functions. *Developmental & Comparative Immunology*, *108*, 103689. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103689>
- Tanji, T., & Ip, Y. T. (2005). Regulators of the Toll and Imd pathways in the *Drosophila* innate immune response. *Trends in Immunology*, *26*(4), 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.02.006>
- Tassanakajon, A., Amparyup, P., Somboonwiwat, K., & Supungul, P. (2011). Cationic antimicrobial peptides in penaeid shrimp. *Marine Biotechnology*, *13*(4), 639–657. <https://doi.org/10.1007/s10126-011-9381-8>
- Tassanakajon, A., Rimphanitchayakit, V., Visetnan, S., Amparyup, P., Somboonwiwat, K., Charoensapsri, W., & Tang, S. (2018). Shrimp humoral responses against pathogens: antimicrobial peptides and melanization. *Developmental & Comparative Immunology*, *80*, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.05.009>
- Tassanakajon, A., Somboonwiwat, K., & Amparyup, P. (2015). Sequence diversity and evolution of antimicrobial peptides in invertebrates. *Developmental & Comparative Immunology*, *48*(2), 324–341. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.05.020>
- Tirasophon, W., Yodmuang, S., Chinnirunvong, W., Plongthongkum, N., & Panyim, S. (2007). Therapeutic inhibition of yellow head virus multiplication in infected shrimps by YHV-protease dsRNA. *Antiviral Research*, *74*(2), 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.11.002>
- Van de Braak, C. B. T., Botterblom, M. H. A., Taverne, N. V., Van Muiswinkel, W. B., Rombout, J. H. W. M., & Van der Knaap, W. P. W. (2002). The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp. *Fish & shellfish immunology*, *13*(4), 293–309. <https://doi.org/10.1006/fsim.2002.0409>
- Vargas-Albores, F., & Yepiz-Plascencia, G. (2000). Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture*, *191*(1–3), 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00416-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00416-6)
- Vargas-Albores, F., Gollas-Galván, T., & Hernández-López, J. (2005). Functional characterization of *Farfantepenaeus californiensis*, *Litopenaeus vannamei* and *L. stylirostris* haemocyte separated using density gradient centrifugation. *Aquaculture Research*, *36*(4), 352–360. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01207.x>
- Vaseeharan, B., Prem Anand, T., Murugan, T., & Chen, J. C. (2006). Shrimp vaccination trials with the VP292 protein of white spot syndrome virus. *Letters in Applied Microbiology*, *43*(2), 137–142. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01941.x>

- Vasta, G. R., Ahmed, H., Nita-Lazar, M., Banerjee, A., Pasek, M., Shridhar, S., Guha, P., & Fernández-Robledo, J. A. (2012). Galectins as self/non-self recognition receptors in innate and adaptive immunity: an unresolved paradox. *Frontiers in Immunology*, *3*, 199. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00199/full>
- Vazquez, L., Alpuche, J., Maldonado, G., Agundis, C., Pereyra-Morales, A., & Zenteno, E. (2009). Immunity mechanisms in crustaceans. *Innate Immunity*, *15*(3), 179–188. <https://doi.org/10.1177/1753425909102876>
- Vinay, T. N., Ray, A. K., Avunje, S., Thangaraj, S. K., Krishnappa, H., Viswanathan, B., Reddy, M. A., Vijayan, K. K., & Patil, P. K. (2019). *Vibrio harveyi* biofilm as immunostimulant candidate for high-health pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* farming. *Fish & Shellfish Immunology*, *95*, 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.004>
- Wang, B., Zhao, J., Song, L., Zhang, H., Wang, L., Li, C., Zheng, P., Zhu, L., Qiu, L., & Xing, K. (2008). Molecular cloning and expression of a novel Kazal-type serine proteinase inhibitor gene from Zhikong scallop *Chlamys farreri*, and the inhibitory activity of its recombinant domain. *Fish & Shellfish Immunology*, *24*(5), 629–637. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.01.017>
- Wang, L., Yue, F., Song, X., & Song, L. (2015). Maternal immune transfer in mollusc. *Developmental & Comparative Immunology*, *48*(2), 354–359. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.05.010>
- Wang, P. H., & He, J. G. (2019). Nucleic acid sensing in invertebrate antiviral immunity. *International Review of Cell and Molecular Biology*, *345*, 287–360. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.11.002>
- Wang, P. H., Wan, D. H., Pang, L. R., Gu, Z. H., Qiu, W., Weng, S. P., Yu, X. Q., & He, J. G. (2012). Molecular cloning, characterization and expression analysis of the tumor necrosis factor (TNF) superfamily gene, TNF receptor superfamily gene and lipopolysaccharide-induced TNF- α factor (LITAF) gene from *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, *36*(1), 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.06.002>
- Wang, R., Lee, S. Y., Cerenius, L., & Söderhäll, K. (2001). Properties of the prophenoloxidase activating enzyme of the freshwater crayfish, *Pacifastacus leniusculus*. *European Journal of Biochemistry*, *268*(4), 895–902. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.01945.x>
- Wang, X. W., & Wang, J. X. (2013). Diversity and multiple functions of lectins in shrimp immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, *39*(1–2), 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2012.04.009>
- Wang, Y. C., Chang, P. S., & Chen, H. Y. (2007). Tissue expressions of nine genes important to immune defence of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, *23*(6), 1161–1177. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.04.004>
- Wu, C., Söderhäll, I., Kim, Y. A., Liu, H., & Söderhäll, K. (2008). Hemocyte-lineage marker

- proteins in a crustacean, the freshwater crayfish, *Pacifastacus leniusculus*. *Proteomics*, 8(20), 4226-4235. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800177>
- Xu, J., Han, F., & Zhang, X. (2007). Silencing shrimp white spot syndrome virus (WSSV) genes by siRNA. *Antiviral Research*, 73(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.08.007>
- Xu, Y. H., Bi, W. J., Wang, X. W., Zhao, Y. R., Zhao, X. F., & Wang, J. X. (2014). Two novel C-type lectins with a low-density lipoprotein receptor class A domain have antiviral function in the shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Developmental & Comparative Immunology*, 42(2), 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.10.003>
- Yedery, R. D., & Reddy, K. V. R. (2009). Identification, cloning, characterization and recombinant expression of an anti-lipopolysaccharide factor from the hemocytes of Indian mud crab, *Scylla serrata*. *Fish & Shellfish Immunology*, 27(2), 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.05.009>
- Yeh, M. S., Tsai, W. L., & Cheng, W. (2013). Identification and cloning of the second type transglutaminase from *Litopenaeus vannamei*, and its transcription following pathogen infection and in relation to the haemolymph coagulation. *Fish & Shellfish Immunology*, 35(5), 1613–1623. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.002>

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Concepción y diseño de la investigación: LDMR, GEL, OCF; redacción del artículo: LDMR, GEL, OCF.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.