

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE
ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA MARINA

PARÁSITOS DEL OSTION JAPONÉS *Crassostrea gigas*
CULTIVADO EN BAHÍA FALSA, BAJA CALIFORNIA
PRESENCIA, HISTOPATOLOGÍA Y CONTROL

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS presenta

Patricia Aurora Macías Montes de Oca

Ensenada, Baja California, México, Julio de 1998.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE
ENSENADA.

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA MARINA

PARÁSITOS DEL OSTIÓN JAPONÉS *Crassostrea gigas*
CULTIVADO EN BAHÍA FALSA, BAJA CALIFORNIA:
PRESENCIA, HISTOPATOLOGÍA Y CONTROL.

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS presenta:

Patricia Aurora Macías Montes de Oca

Ensenada, Baja California, México. Julio de 1998.

RESUMEN de la tesis de Patricia A. Macías Montes de Oca, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO en CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Julio de 1998.

PARÁSITOS DEL OSTIÓN JAPONÉS *Crassostrea gigas* CULTIVADO EN BAHÍA FALSA, BAJA CALIFORNIA: PRESENCIA, HISTOPATOLOGÍA Y CONTROL.

Resumen aprobado por:

El cultivo del ostión japonés, *Crassostrea gigas* (Thumborg, 1793), es el cultivo comercial de moluscos más importante en el estado de Baja California, México. Su producción de 2,500 toneladas métricas al año, se obtiene de Bahía Falsa al sur de la ciudad de Ensenada y se comercializa en México y EUA. A pesar de su importancia, existe muy poca información relacionada con los parásitos y organismos asociados que afectan a los ostiones en cultivo. Entre mayo de 1996 y abril de 1997 se efectuó una evaluación mensual de la carga parasitaria de los ostiones cultivados en dos localidades de la bahía (Agromarinos, ubicado hacia la parte exterior de la bahía y Alfonsos, ubicado hacia la parte interna de la misma) y en tres profundidades del arte de cultivo ("sarta") (nivel superior, medio e inferior). Se contabilizó el número de parásitos y organismos asociados encontrados en la concha, cavidad paleal y en los tejidos del organismo. Su presencia se relacionó con el Índice de Condición (IC) de los ostiones, así como con la mortalidad. En la parte interior de las conchas se encontró al gusano perforador *Polydora* sp. su prevalencia fue mayor en los ostiones de Agromarinos que en Alfonsos y en los ostiones cerca del fondo que aquellos ubicados hacia la superficie. En la cavidad paleal de los ostiones de Alfonsos se observó la presencia de ácaros, pertenecientes a la Familia Pontharachnidae y larvas de insecto de la especie *Tethymia aptena*, así mismo se observó la presencia de nemátodos, en ambas localidades. Este es el primer registro de ácaros en *C. gigas*, cuya prevalencia fue del 20 %. La prevalencia de las larvas del insecto *T. aptena* fue del 25 % y se observó predominantemente en los ostiones del nivel medio y cercanos a la superficie. La prevalencia de los nemátodos fue del 70 % en los ostiones de Agromarinos y en Alfonsos 80 % y fueron encontrados indistintamente del nivel de profundidad. En el tejido conectivo de la glándula digestiva de los ostiones analizados se observó la presencia de bacterias, cuerpos de inclusión similares a tipo haplosporidio y cuerpos de inclusión de apariencia dudosa. Las bacterias se encontraron en los ostiones de Alfonsos, en mayo de 1996 y en junio de 1996 en Agromarinos. Los cuerpos de inclusión fueron observados dentro de las células epiteliales de los túbulos digestivos, estómago e intestino y ocasionalmente en manto y branquias, estos cuerpos son similares a los protozoos parásito tipo haplosporidio. Su presencia en los ostiones fue constante

con valores de prevalencia en ocasiones del 100 % e indistinta respecto a la profundidad. Los cuerpos de inclusión de apariencia dudosa, se consideran parecidos a un procarionte de tipo rickettsial, estos cuerpos fueron observados en glándula digestiva. Todos los organismos encontrados en *Crassostrea gigas* no tuvieron relación con el IC de los ostiones así como tampoco con la mortalidad, encontrándose que los ostiones que estan cerca del fondo presentan menores IC y una mayor mortalidad que aquellos ostiones colocados cerca de la superficie. Esto ha permitido recomendar que las artes de cultivo se deben modificar, aumentando la distancia entre los ostiones de nivel inferior y el fondo lodoso. Concluimos que los ostiones en Bahía Falsa son organismos sanos y están siendo cultivados en una zona idónea para su crecimiento y desarrollo, sin embargo, es primordial monitorear permanentemente la condición sanitaria de los ostiones cultivados y tener mayor control en la introducción de especies a la Bahía.

Palabras Claves: *Crassostrea gigas*, parasitología, carga parasitaria, ácaros marinos *Tethymia aptena*, gusanos perforadores, *Polydora* sp., cuerpos de inclusión tipo haplosporidio, cuerpos de inclusión tipo rickettsia, bacterias, mortalidad.

ABSTRACT of the Thesis of Patricia A. Macías Montes de Oca, presented as partial requirement to obtain the MASTER IN SCIENCES grade in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California, México. July 1998.

PARASITE IN PACIFIC OYSTER *Crassostrea gigas* CULTURED IN BAHÍA FALSA, BAJA CALIFORNIA: PRESENCE, HISTOPATOLOGY AND CONTROL.

The most important aquacultural activity in Baja California, México is the culture of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793). The exploitation of this oyster in Bahia Falsa (located ~200 km to the south of Ensenada, Baja California) yields a crop of 2,500 metric tons, which are commercialized in Mexico and EUA. In spite of its commercial importance, there is a poor knowledge about the existence of parasites and the effect of associated organisms present in the processes of cultivation of this oyster. In this work, we present the result of the analysis of monthly evaluations of parasitic load performed between May 1996 and April 1997 in two locations of Bahia Falsa organism. Sampling in this bay were carried out at three depth levels of the structure for culture ("sarta") (upper, middle and lower) in two locations: Agromarinos, located in the external area of the bay and Alfonsos located in the inner part of the bay. Each sample was analysed for parasitic load and associated organisms on: the shell, paleal cavity and the organism tissue. The results of this analyses were related with the oyster Condition Index (CI) and with the mortality. In the inner part of the shell the analysis indicates, the presence of the burrowing worm *Polydora* sp. The presence of this worm was greater in the external area of the Bay (Agromarinos) and in the organisms sampled in the lower level.

In paleal cavity the sampled oyster showed the presence of a marine mite of the family Ponharachnidae, *Tethymia aptena* (Insecta) in its larval stage and nematodes of the subclass Adenophora. This is the first report of the presence of marine mites in *C. gigas*. Its presence was observed only in the inner part of the bay (Alfonsos) with a prevalence of 20 %. *T. aptena* was observed in the upper and middle levels in this same site (Alfonsos), with a 20 % of prevalence. On the other hand, the nematodes were observed in both sites of the bay without a particular level of preference. Their prevalences varied between 70 and 80% in Agromarinos and Alfonsos respectively. In the organism tissue the following results were obtained: in the connective tissue of the digestive gland, it was observed the presence of inclusion bodies of two types: haplosporidian-like and in few occasions procariotes rikettsia-like (of doubtful appearance), and bacteria. The inclusion bodies haplosporidian-like were observed in both sampling sites, inside the epithelium cells of the digestive diverticula, stomach and intestine and only in some samples in the mantle and gills. In some months the prevalence of these bodies reach 100 % and there was not an apparent depth level of preference. The bacteria were observed only in two monthly samplings: in May 1996 in Alfonsos and in June 1996 in Agromarinos. Comparisons of the above results with the CI and mortality did not show any significant relationship. In general the organisms in the deeper level of the "sarta" showed a low CI and a high mortality rate than those

located in the upper level. Our results therefore, suggest to increase the distance between the bottom and the maximum depth of the "sarta", in order to improve the health condition of the oyster cultures. The analysis on parasitic load and associated organisms indicate that the oyster culture in Bahia Falsa produces healthy organisms. Nevertheless, we suggest a continuous monitoring of oyster health conditions and to have a meticulous control of the species that can be introducing in this area in the future.

Key words: *Crassostrea gigas*, parasitology, parasitic load, associated organisms, marine mites, *Tethymia aptena*, burrowing worms, *Polydora* sp., bodies like-haplosporidians, Rickettsia-like inclusion bodies, bacteria, mortality.

DEDICATORIA

Víctor

Tu amor, tu apoyo y confianza fue la motivación para mi superación. Te amo.

Karla Patricia y María Fernanda

Como las veo, me vi; como me ven, se verán
con todo mi amor

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Cáceres Martínez por permitirme la oportunidad de colaborar en su proyecto, por la infinidad de sugerencias y comentarios y por su apoyo incondicional, mil gracias.

A los miembros del comité: Dr. Oscar Sosa Nishizaki, Dr. Miguel A. del Río Portilla y Dr. Enrique Gómez Treviño, por revisar el trabajo y por sus valiosas críticas y sugerencias.

Un agradecimiento especial para mis papás, hermanos y familia por su cariño, apoyo incondicional y ánimos para terminar.

A Rebeca Vázquez, Sergio Curiel y Kenia Castañeda, por que siempre me ayudaron cuando los necesité, muchas gracias.

Al CONACyT por la beca otorgada y por el financiamiento del proyecto "Parásitos de moluscos bivalvos cultivados en Baja California: Presencia, histopatología y control". No. 3933P-B9608 del cual este trabajo forma parte.

Al CICESE por las facilidades brindadas durante mi permanencia de estudiante.

A la Sra. Ana López Vaccaro y a todo su equipo de trabajo, por su dedicación y esmero en el cuidado de mis hijas, muchas gracias.

A Juan y Vicente Guerrero del campo ostrícola de Agromarinos y a Alfonso García de Alfonsos, por las facilidades brindadas en sus instalaciones.

Al Oc. Rubén García por su ayuda en la colecta de muestras y por proveernos la información técnica y biológica de los ostiones cultivados en Bahía Falsa.

A Lupita Morales de la Biblioteca de C.I.C.E.S.E. por proveernos la bibliografía.

A Verónica Rodríguez por su cooperación en la identificación del gusano perforador.

A Gissel Tinoco, José Angel Olivas y Jorge Cid, por su apoyo brindado, gracias.

A todo el personal de Acuicultura del C.I.C.E.S.E. por su cooperación en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. Historia del cultivo de ostión en Baja California	2
I.2. Técnicas de cultivo	4
I.3. Parásitos del ostión	7
I.4. Objetivos	11
II. MATERIAL Y MÉTODOS	12
II.1. Área de estudio	12
II.2. Localidades de muestreo y colecta de muestras	13
II.3. Procesamiento de las muestras	15
II.3.1. Revisión de los especímenes a nivel macroscópico	15
II.3.2. Prevalencia y grado de infestación	16
II.3.3. Revisión de los especímenes a nivel microscópico	17
II.4. Análisis de datos	20
III. RESULTADOS	21
III.1. Análisis de los especímenes a nivel macroscópico	21
III.1.1. Revisión de la parte interna de las valvas	21
III.1.1.1. Identificación del gusano perforador	21
III.1.1.2. Relación de la presencia de <i>Polydora</i> sp. con el IC del ostión japonés	25
III.1.1.3. Prevalencia de <i>Polydora</i> sp. en <i>Crassostrea gigas</i>	26
III.1.1.4. Relación del IC del ostión japonés con la profundidad y la localidad de muestreo	29
III.1.2. Organismos presentes en el cuerpo-blando	31
III.1.2.1. Ácaros	31
III.1.2.2. Larvas de insecto	33
III.1.2.3. Nemátodos	36
III.2. Análisis histopatológico	40
III.2.1. Bacterias	40
III.2.2. Cuerpos de inclusión tipo Haplosporidio	42
III.2.2.1. Prevalencia de las formas parasitarias	45
III.2.2.2. Grado de infestación	47
III.2.2.3. Frecuencia de observación de los cuerpos de inclusión en los órganos estudiados	49
III.2.2.4. Daños asociados a los cuerpos de inclusión de tipo haplosporidio	52
III.2.2.5. Relación entre la presencia de los cuerpos de inclusión con el IC de los ostiones y la mortalidad	53
III.4. Mortalidad	53

III.3.1. Mortalidad mensual	54
III.4. Temperatura y Salinidad	57
IV. DISCUSION	59
IV.1. <i>Polydora</i> sp.	59
IV.2. Ácaros	62
IV.3. Larvas de insecto	64
IV.4. Nemátodos	66
IV.5. Bacterias	67
IV.6. Cuerpos de inclusión tipo haplosporidios (Protozoa)	70
IV.7. Mortalidad	75
IV.8. Temperaruta	77
V. CONCLUSIONES	78
LITERATURA CITADA	81
APÉNDICES:	90
1. Técnica de deshidratación e inclusión en parafina de los cortes histológicos	90
2. Técnica de tinción Hematoxilina-Eosina	91
3. <i>Polydora</i> sp. infestation and health of the Pacific oyster <i>Crassostrea gigas</i> cultured in Baja California, NW México. Jorge Cáceres-Martínez, Patricia Macías-Montes de Oca y Rebeca Vásquez-Yeomans. Trabajo publicado en J. Shellfish Res. 17(2): 1-6 p. 1998. (Revista considerada en J. of Citation Reports)	92



LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	Primeros sitios donde se sembró semilla de ostión japonés en Baja California y Baja California Sur.	3
2	Arte de cultivo tipo balsa (A); arte de cultivo tipo columpio (B); "sarta" (C) y (D) arte de cultivo tipo raza, sistema utilizado actualmente en Bahía Falsa, en la figura se observan las sartas con ostiones que penden de él.	6
3	Localidades de muestreo en Bahía Falsa, Baja California, México. Agromarinos ubicado hacia la boca de la bahía y Alfonsos ubicado en la parte interna.	14
4	Corte transversal de <i>Crassostrea gigas</i> , donde se muestran los órganos utilizados para evaluar la carga parasitaria. En el recuadro (A) se muestra la estructura interna de un túbulo digestivo, observándose el lumen con forma de cruz en la parte central de la estructura. En el recuadro (B) se observa el tejido columnar ciliado en las paredes del intestino y en el estómago (C).	19
5	Presencia de ampollas de lodo encontradas en la parte interna de las valvas de <i>Crassostrea gigas</i> (A) y al gusano perforador que las forma <i>Polydora</i> sp.	23
6	Relación entre Índice de Condición con el número de ampollas (A) y con el área de la ampolla por ostión.	25
7	Prevalencia de <i>Polydora</i> sp. a tres niveles de profundidad y en dos localidades. Agromarinos ubicado hacia la parte exterior de Bahía Falsa (A) y Alfonsos ubicado en la parte interna de la misma (B).	27
8	Índice de Condición (IC) de <i>Crassostrea gigas</i> a tres niveles de profundidad y en dos localidades. Agromarinos (A) y (B) Alfonsos. *No hay Datos. La línea sobre las barras indica el error típico.	30
9	Ácaros encontrados en <i>Crassostrea gigas</i> con características morfológicas pertenecientes a la familia Pontarachnidae Thor, 1929. Observándose un caparazón que cubre el cuerpo y las patas en posición radial.	32
10	Prevalencia de ácaros registrada durante el periodo de muestreo en Alfonsos.	33

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Página

- | | | |
|----|--|----|
| 11 | Características morfológicas de las larvas de insecto encontradas en <i>Crassostrea gigas</i> . Cuerpo alargado y segmentado (12 segmentos en total), hacia la parte posterior del cuerpo se observa la estructura de la cabeza. No se observa la presencia de alas en el cuerpo de la larva. | 34 |
| 12 | Prevalencia de larvas de insecto encontradas en el ostión japonés <i>Crassostrea gigas</i> , cultivado en Alfonsos. | 35 |
| 13 | Nemátodos encontrados en el líquido intervalvar de <i>Crassostrea gigas</i> . | 38 |
| 14 | Prevalencia de nemátodos en los ostiones cultivados en (A) Agromarinos y (B) Alfonsos. | 39 |
| 15 | (A) Tejido columnar ciliado sano y (B) presencia de bacterias tipo bacilos dispersas en el lumen del estómago (flecha) se observa la ausencia de cilios en este órgano. Escala de la barra = 20 y 5 μm respectivamente. | 40 |
| 16 | (A) Túbulo digestivo sano y (B) cuerpos de inclusión de tipo haplosporidio en el interior de las células digestivas de los túbulos digestivos de <i>Crassostrea gigas</i> (flecha). Se observa dentro del plasmodio esporas (flecha). Escala de la barra = 20 μm . (C) Detalle del cuerpo de inclusión (flecha) a mayores aumentos. Escala de la barra = 10 μm . | 43 |
| 17 | (A) Túbulo digestivo sano y (B) cuerpos de inclusión de apariencia dudosa en el interior de las células digestivas de un túbulo digestivo de <i>Crassostrea gigas</i> (flecha). Escala de la barra = 20 μm . | 44 |
| 18 | Prevalencia de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios en los ostiones de Agromarinos (A) y Alfonsos (B). | 46 |
| 19 | Promedio de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios observados por organismo en Agromarinos (A) y Alfonsos (B) durante el periodo de muestreo. La línea sobre las barras indica el error típico. | 48 |
| 20 | Frecuencia de talla de los ostiones muertos en Agromarinos (A) y en Alfonsos (B), durante el periodo de muestreo. | 54 |
| 21 | Mortalidad mensual de <i>Crassostrea gigas</i> en tres niveles de profundidad y dos sitios de muestreo, Agromarinos (A) y Alfonsos (B). | 55 |

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Página

- | | | |
|----|--|----|
| 22 | Mortalidad acumulada de <i>Crassostrea gigas</i> registrada durante el periodo de estudio, en Agromarinos (A) y Alfonsos (B). | 56 |
| 23 | Temperatura (°C) y salinidad (ppm) registrada durante el periodo de muestreo Agromarinos (A) y Alfonsos (B). | 57 |
| 24 | Registro de temperatura superficial (°C) durante el periodo de enero a mayo de 1997 en las localidades de muestreo Agromarinos (A) y Alfonsos (B). | 58 |

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>	<u>Página</u>
I Rangos (R) y promedio (P) del área de ocupación de las ampollas y de la superficie interna de las valvas de los ostiones de ambas localidades. ($\pm$) error típico.	24
II Número de <i>Polydora</i> sp. por ostión, <i>Crassostrea gigas</i> por niveles y localidades durante el período de estudio. (*) no hay datos.	28
III Frecuencia relativa de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio en los órganos estudiados de <i>Crassostrea gigas</i> , en Agromarinos.	50
IV Rango de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio por órgano infestado de <i>Crassostrea gigas</i> , en Agromarinos.	50
V Frecuencia relativa de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio en los órganos estudiados de <i>Crassostrea gigas</i> , en Alfonsos.	51
VI Rango de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio por órgano infestado de <i>C. gigas</i> , de Alfonsos.	51

PARÁSITOS DEL OSTIÓN JAPONÉS *Crassostrea gigas* CULTIVADO EN BAHÍA FALSA, BAJA CALIFORNIA: PRESENCIA, HISTOPATOLOGÍA Y CONTROL.

I INTRODUCCIÓN

A nivel de acuicultura comercial, los moluscos bivalvos constituyen uno de los grupos de mayor importancia económica a nivel mundial, destacando el cultivo del ostión. Los mayores productores de ostión en el mundo son Estados Unidos, Japón, Francia, España, China y Corea. La última estadística de la FAO (1996) señala que la producción mundial de moluscos por acuicultura en 1994 fue de 4.379 millones de Tm, de las cuales los cultivos de ostión representan 0.812 millones de Tm, equivalentes al 17.2 % de dicha producción.

En México, el cultivo de moluscos bivalvos alcanzó el mayor volumen de producción durante 1992, con 40.8 Tm de las cuales el 71.66 % correspondió al ostión (FAO, 1994). El 90 % de esta producción proviene de los estados de Tamaulipas, Veracruz y Tabasco en el litoral del Golfo de México, de donde se extrae el ostión americano *Crassostrea virginica*. El litoral del Pacífico Mexicano contribuye con el 10 % de la producción total y su tendencia es a aumentar, la especie que se cultiva en esta zona es el ostión japonés *Crassostrea gigas* (Chávez-Nishikawa y Acosta-Ruíz, 1986; Palacios y García, 1988).

I.1 Historia del cultivo de ostión en Baja California

En 1969 se importó de Estados Unidos de Norte América semilla de ostión japonés con el propósito de cultivarlo en las costas de Sinaloa en el litoral del Pacífico Mexicano. En 1973 los intentos de cultivo se extendieron al estado de Baja California marcando con ello una etapa histórica en el cultivo de moluscos en México. En este Estado, los primeros sitios en que se sembró semilla de ostión fueron el Estero de Punta Banda, cercano a la ciudad de Ensenada; Bahía Falsa y en el estado de Baja California Sur, Bahía Magdalena (Fig. 1). De 1976 a 1977 se construyó en la localidad de Bahía Falsa un laboratorio para producir larvas de ostión japonés y se propuso al Sector Cooperativista Ejidal la posibilidad de cultivar esta especie. De 1978 a 1979 fueron instaladas en Bahía Falsa 246 balsas para iniciar los cultivos en suspensión de ostión japonés fijados en concha (Chávez de Nishikawa y Acosta-Ruíz, 1986). Actualmente, Bahía Falsa se ha convertido en el principal productor de *Crassostrea gigas* en el estado. Los productores a través del tiempo cambiaron su razón social de Sociedades Cooperativas Ejidales a Iniciativa Privada y en la actualidad son 10 las compañías que laboran en la Bahía.

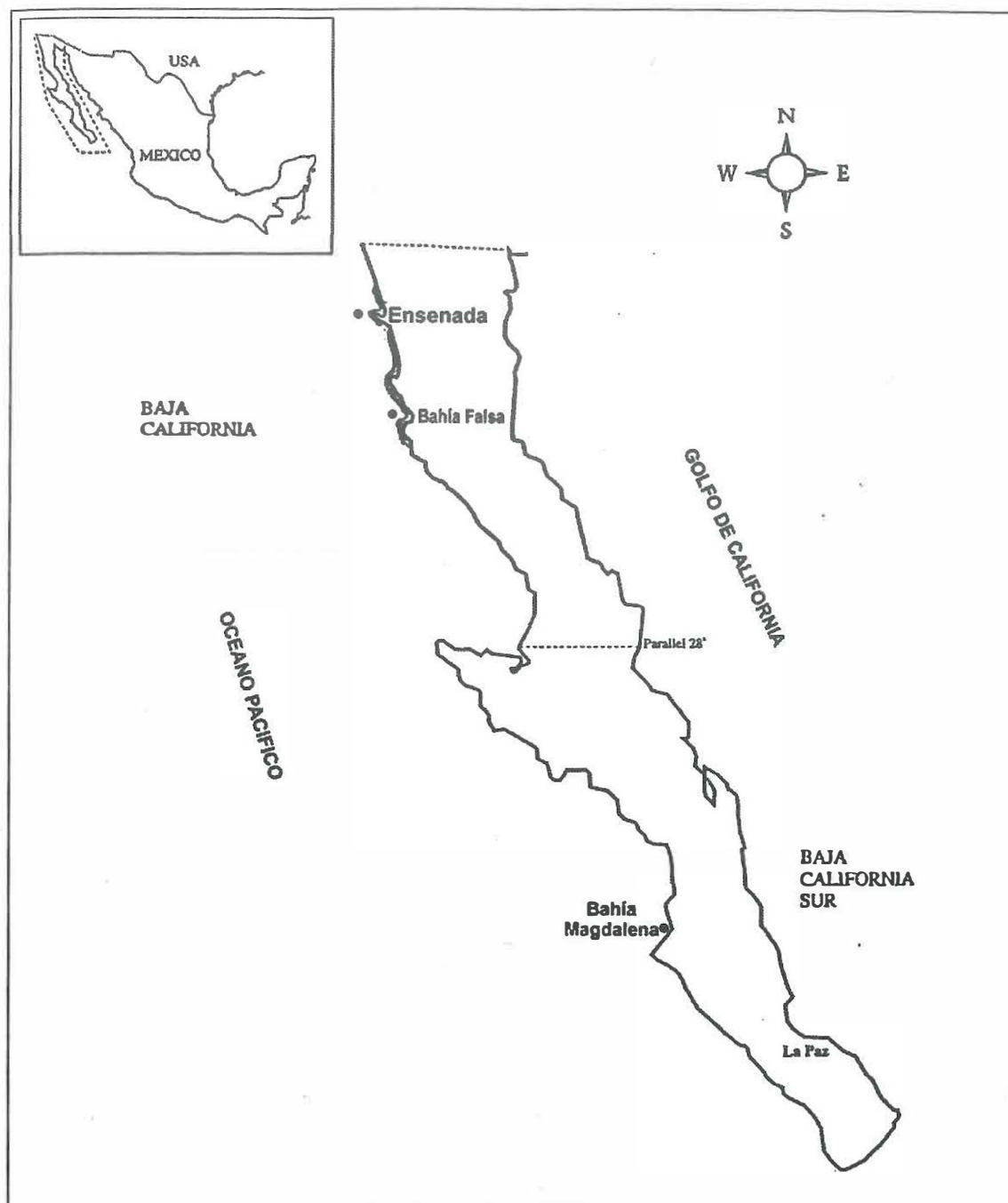


Figura 1. Primeros sitios donde se sembró semilla de ostión japonés en Baja California y Baja California Sur.

I.2 Técnicas de cultivo

Inicialmente, la técnica de cultivo que se utilizó en Bahía Falsa fue la de balsa flotante que fue financiada por el Programa de Inversiones para el Desarrollo Rural (PIDER) de la entonces llamada Secretaría de Pesca, en el sexenio 1976-1982 (Chávez de Nishikawa y Acosta-Ruíz, 1986). Esta institución dotó a un grupo de ejidatarios pescadores que se integraron en una Sociedad Cooperativa con 226 balsas para iniciar el cultivo de ostión. Las balsas consistían de una serie de travesaños de los que pendían "sartas" con ostiones, sobre flotadores alargados de "poliuretano". Las "sartas" consistían de una cuerda con conchas sobre las cuales se habían fijado las larvas de ostión (Fig. 2). El tamaño de la balsa era de 3.7 x 1.9 metros y por lo general las balsas se amarraban una tras otra, en serie (Fig. 2). Este tipo de arte de cultivo es idóneo para zonas donde el oleaje no es muy fuerte.

Buscando la implementación de sistemas de cultivo más económicos y de mayor productividad se utilizaron posteriormente otras artes de cultivo conocidas como trineos o columpios. Los trineos o columpios consistían de flotadores con anclajes y una serie de líneas de cabo de nylon transversales a los flotadores de donde se colgaban las "sartas" (Fig. 2), este sistema presentó las siguientes ventajas respecto al uso de la balsa: facilidad para ser reparados en caso de necesitarse, mayor limpieza al presentar una menor superficie de apoyo para las aves y un menor costo.

Posteriormente, de acuerdo a las condiciones naturales de Bahía Falsa, tales como escasa profundidad, 7 metros en canal principal, régimen de marea de menos de 2 metros, y un bajo central que ocupa un 40 % del área total que emerge durante las

mareas bajas (Villarreal-Chávez, 1993), se desarrolló la técnica de cultivo en estructuras de tubos de plástico de PVC (Cloruro de polivinilo) fijas en el sustrato (Fig. 2) que actualmente se utilizan y se les conoce en la zona como "racas". Esta estructura se construye con un tubo de PVC y sirve para hacer las bases de la estructura a manera de "porterías", tienen una altura de 2 metros y se entierran en el sustrato unos 30 cm de profundidad, quedando una distancia entre el suelo y la "sarta" de aproximadamente 15 a 20 cm. Cinco de estas estructuras se colocan una tras otra y se separan de las demás 1.25 m. Encima se colocan, transversalmente, tubos de PVC de 1 1/2", sobre los que cuelgan las "sartas".

La concha que sirve de sustrato es por lo general de almeja voladora u ostión. Estas conchas se atan a un cabo de polipropileno que pasa por un agujero realizado en el centro de la concha y se mantienen separadas por un espacio de 15 cm. En general 7 conchas componen una unidad. A esta estructura, como ya mencionamos anteriormente, en conjunto se le denomina "sarta" (Fig. 2). La longitud de la "sarta" es próximamente de 1.50 metros. Actualmente en estas estructuras son colocados los ostiones hasta alcanzar su talla comercial. En Bahía Falsa se obtiene una producción anual promedio de 2,500 Tm con un valor en el mercado de \$2,380,952.40 dólares americanos (considerando que el costo por docena de ostión es de 0.90 centavos de dólar). El producto se comercializa en México y Estados Unidos, constituyendo con ello que el cultivo del ostión japonés *Crassostrea gigas* sea el cultivo de moluscos más importante en el Estado de Baja California.

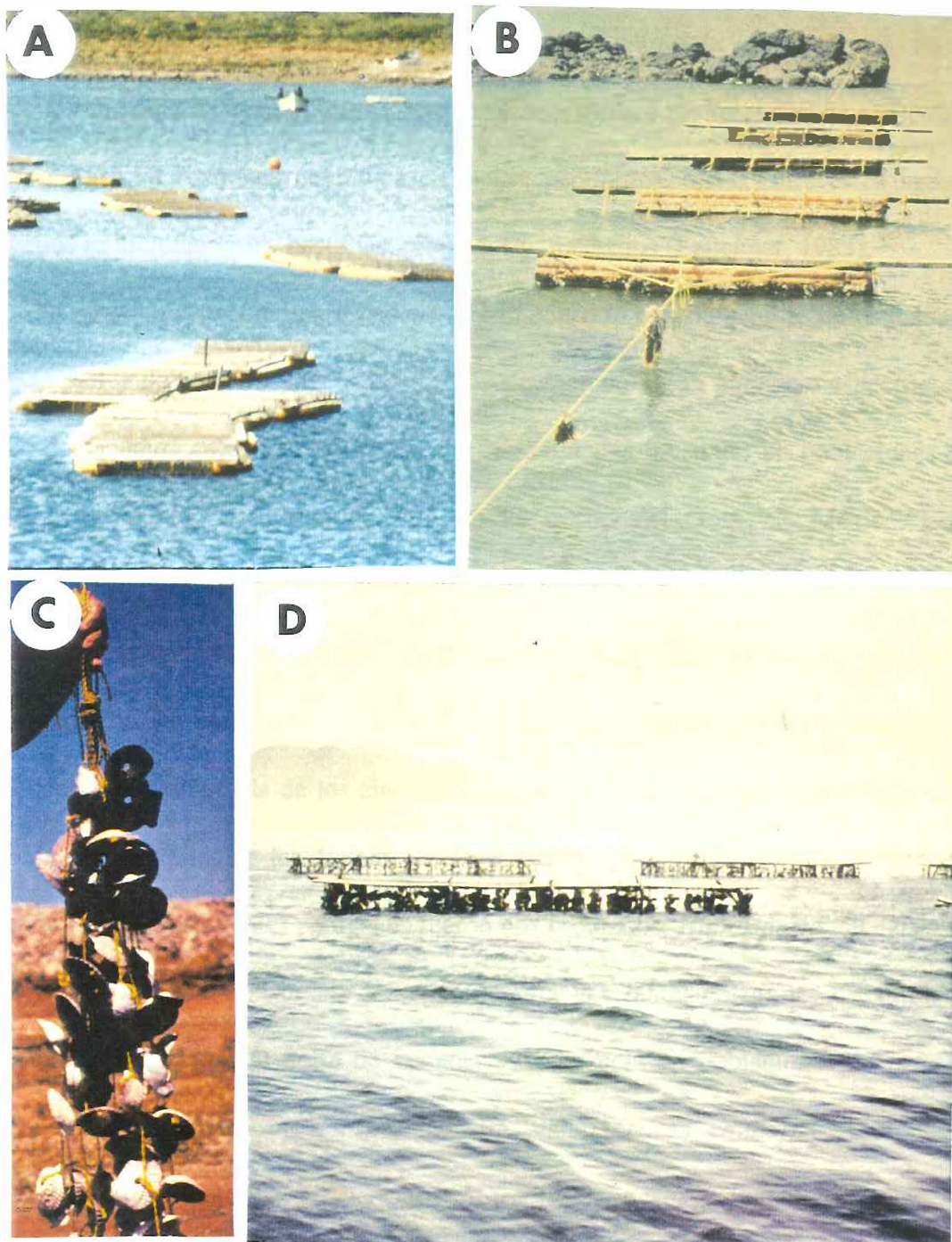


Figura 2. Arte de cultivo tipo balsa (A); arte de cultivo tipo columpio (B); "sarta" (C) y (D) arte de cultivo tipo raca, sistema utilizado actualmente en Bahía Falsa, en la figura se observan las sartas con ostiones que penden de él.

I.3 Parásitos del ostión

Los moluscos bivalvos marinos pueden ser afectados por un amplio espectro de organismos parásitos. Los primeros estudios sobre patología en moluscos fueron enfocados en aquellos agentes que se detectaron asociados a mortalidades de especies de interés comercial (ostiones, mejillones, almejas, pectínidos, etc.). Entre estos agentes patógenos se incluían virus, bacterias, protozoos y metazoos (Lauckner, 1983).

Existen registros de mortalidades que han ocurrido en poblaciones de ostiones en diversas partes del mundo y que han sido asociadas con algún patógeno específico. A finales de los años cuarentas se presentaron mortalidades inusuales en poblaciones del ostión americano *Crassostrea virginica*, en las costas del Golfo de México. Estas mortalidades fueron asociadas al protozoo parásito *Perkinsus marinus*, causante de la enfermedad conocida como "Dermo". Actualmente su rango de distribución geográfica se extiende de la costa este de EUA hasta las lagunas de Tabasco en México (Ford, 1992). En la década de los cincuenta, una mortalidad dramática de *Crassostrea virginica* se presentó en las Bahías de Delaware y Chesapeake (en las costas del Atlántico Medio) los agentes patógenos fueron dos protozoos, *Haplosporidium nelsoni* y *Haplosporidium costale*. Durante los años sesenta y setenta, epizootias de similares proporciones ocurrieron al norte de las costas de Francia en poblaciones de la ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) y la ostra plana (*Ostrea edulis*), los patógenos asociados fueron dos protozoos parásitos: *Marteilia refringens* y *Bonamia ostreae*. La enfermedad de "Bonamiasis" causada por *Bonamia ostreae* se propagó rápidamente a

todas las áreas de cultivo en las costas de Francia, España, Holanda e Inglaterra ocasionando severas mortalidades (Sindermann, 1990; Cáceres-Martínez *et al.*, 1995).

Entre las enfermedades causadas por parásitos que afectan al ostión japonés *Crassostrea gigas* se ha reportado la enfermedad viral del velo del ostión (OVVD) la cual es letal para las larvas del ostión (Elston y Wilkinson, 1985). El parásito responsable es un iridovirus que infecta el epitelio del velo de la larva, causando mortalidades anuales de larvas de ostión en Japón y en Bahía de Willapa y Puget Sound en Washington (Sindermann, 1990). Otros registros de mortalidades de larvas del ostión japonés han sido detectadas en Francia y Nueva Zelanda y se asociaron a un virus tipo herpes causante de la "enfermedad viral tipo herpes del ostión" (Bachere *et al.*, 1995).

Desde 1969 protozoos tipo haplosporidios parecidos al género *Minchinia* han sido encontrados parasitando a *Crassostrea gigas*, sin embargo, en la mayoría de los casos no se ha tenido evidencia de que el parásito sea el responsable directo de las mortalidades que se han registrado (Perkins, 1979; Littlewood *et al.*, 1992; Sindermann, 1990; Lauckner, 1983; Katkansky y Warner, 1970). Recientemente se han detectado diversos casos de infecciones por haplosporidios en *Crassostrea gigas* en Etang de Thau, Francia, donde la estructura de la espora incluyendo su ornamentación son similares a *Haplosporidium costale* (Comps y Pichot, 1991; Katkansky y Warner, 1970).

Mikrocytos mackini es un parásito protista microcelular de taxonomía incierta, descubierto en 1963 por J. G. Mackin, dicho organismo es asociado con lesiones y mortalidades importantes de *Crassostrea gigas* en la Isla de Denman en British

Columbia, Canadá (Farley *et al.*, 1988). El parásito microcelular se ha descrito como una célula de 1-3 micras con un pequeño núcleo que se encuentra dentro del tejido conectivo vesicular en donde produce respuestas inflamatorias focales (Hervio *et al.*, 1996).

Mytilicola orientalis es una copépodo que infecta los intestinos de bivalvos, especialmente del mejillón *Mytilus trossulus* Gould, 1850. Este parásito también afecta al ostión japonés y la ostra europea provocando daños en la glándula digestiva del hospedero. El primero en describir a este copepodo fue Morí en 1935, quien lo encontró en el tracto digestivo del ostión del Pacífico, *Crassostrea gigas* en las costas del Pacífico de Norte América (Lauckner, 1983; Sindermann, 1990).

Otros organismos que también afectan a las poblaciones de ostiones son los comensales tales como las esponjas perforadoras del género *Cliona*, gusanos perforadores que constituyen el complejo *Brocardia-Polydora* (Light, 1978). Estos organismos utilizan la superficie de la concha del hospedero o la perforan con la finalidad de hacer refugios donde habitar (Barnes, 1986). El comensal puede entrar en contacto con el cuerpo blando del hospedero (músculo o manto) y provocar una lesión que puede ser infectada por microorganismos (Zottoli y Crarriker, 1974). Los gusanos poliquetos del género *Polydora*, que perforan las conchas del hospedero, pueden ser muy abundantes en ostiones cultivados (Handley y Bergquist, 1997). Se han detectado en las costas del Pacífico así como en el Atlántico de los Estados Unidos de Norte América. Especies como *P. websteri* Hartman y *P. ligni* Webster pueden llegar a afectar la fisiología de los ostiones (Galtsoff, 1964). *P. hoplura* y *P. ciliata* se han asociado con

mortalidades en los cultivos de *Ostrea edulis*, *Crassostrea virginica* y *Crassostrea gigas* en Europa y Australia (Hopkins, 1958; Stephen, 1978).

Con el creciente desarrollo del cultivo de moluscos bivalvos en el estado de Baja California y en el caso particular del ostión japonés *Crassostrea gigas*, el control de enfermedades viene a constituir uno de los puntos críticos para dicho desarrollo. Lo anterior ha sido reconocido a nivel nacional e internacional y se han establecido normas de regulación sanitarias, cuyo objetivo es evitar y controlar la dispersión de enfermedades de moluscos bivalvos. Si bien esta legislación en países desarrollados como Japón, EUA, España y Francia parte del conocimiento preciso de los parásitos y enfermedades que afectan a las especies de moluscos que cultivan, en México, se ha adoptado dicha legislación sin conocer los problemas parasitarios y de enfermedades que afectan tanto a especies nativas como exóticas que se cultivan en nuestro país. Es necesario, entonces, determinar los agentes causales de enfermedades, hacer evaluaciones del porcentaje de organismos infestados así como de la intensidad de la infección o bien de las pérdidas causadas por mortalidad, que de alguna manera merman la capacidad productiva de los moluscos que se cultivan en México y en particular del ostión japonés *C. gigas* que se cultiva en Baja California.

A pesar del desarrollo de esta actividad no existe ningún estudio que haya evaluado la carga parasitaria del ostión japonés cultivado en Bahía Falsa, San Quintín, Baja California.

I.4 Objetivos

El propósito de este trabajo fue identificar los parásitos más comunes en dos cultivos de *Crassostrea gigas* de Bahía Falsa en San Quintín, Baja California, determinando su variación mensual durante un año y relacionar las condiciones de cultivo con dichos parásitos, la ubicación en órganos internos y los daños producidos a nivel macroscópico e histológico. También hacer una inferencia acerca de los posibles efectos sobre los cultivos en la zona y las medidas y recomendaciones para su control.

II MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Área de estudio

Bahía San Quintín es una laguna costera localizada en la costa del Pacífico de Baja California, aproximadamente a 200 km al sur de la ciudad de Ensenada, Baja California, entre las latitudes de 30° 24' N a 30° 30' N y longitudes de 115° 57' W a 116° 01' W (Fig. 1). Esta Bahía tiene una superficie de unos 41 km² y su comunicación con el mar abierto es permanente. La bahía está formada por dos brazos: Bahía San Quintín al este, la cual tiene una longitud aproximada de 11 km y una profundidad de 13 metros en el canal principal, y Bahía Falsa al oeste con una longitud de 7 km y una profundidad máxima de 7 metros en el canal principal; es en este brazo donde se localizan los cultivos del ostión japonés (Lara-Lara, 1975).

La hidrodinámica de Bahía de San Quintín está controlada principalmente por dos factores: el efecto de marea y la circulación inducida por el viento (Lara-Lara y Álvarez-Borrego, 1975). Las variaciones anuales de temperatura en Bahía San Quintín no son muy amplias. La temperatura en verano varía de 18 a 20 °C, mientras que en invierno fluctúa entre los 12 y 15 °C. En ambos brazos de la bahía, la distribución de salinidades es ligeramente diferente. Bahía Falsa tiende a ser menos salina (33-36 ppm) que Bahía San Quintín (33.5 - 37 ppm) (Álvarez-Borrego *et al.*, 1975).

II.2. Localidades de muestreo y colecta de muestras

El estudio de la carga parasitaria en *Crassostrea gigas* se realizó mensualmente de mayo de 1996 a abril de 1997 * en dos localidades de Bahía Falsa. La primera denominada Agromarinos (Fig. 3), se ubica hacia la parte exterior de la bahía, en una área que se caracteriza por ser una zona de cultivo con mantenimiento continuo por parte de la compañía propietaria (del mismo nombre). El fondo en esta zona está formado por sedimentos de limo con altos contenidos de materia orgánica debido a los cultivos de ostión y a *Zostera marina* (Villarreal-Chávez, 1993). Grosline y Stewart (1962) caracterizaron a esta parte de la bahía con la presencia de praderas de pastos marinos (*Z. marina*), los cultivos de Agromarinos se ubican cerca de estas praderas. El segundo punto de muestreo, Alfonsos (Fig. 3) se localiza hacia la parte interna de la bahía, es una zona de cultivo sin mantenimiento continuo por parte de la compañía propietaria (del mismo nombre). El fondo en esta zona de cultivo está compuesto por sedimento de arena fina mezclada con limo, relacionado con la parte profunda del canal de mareas (8-15 m) (Villarreal-Chávez, 1993). Grosline y Stewart (1962) caracterizaron la presencia de un canal de mareas y Alfonsos se ubica cerca de este canal.

En cada uno de los sitios se muestrearon de una a dos sartas conteniendo entre 30 y 50 organismos de talla comercial de más de 12 meses de edad.

NOTA: (*) El mes de abril de 1997 no se muestreó en la localidad de Alfonsos.

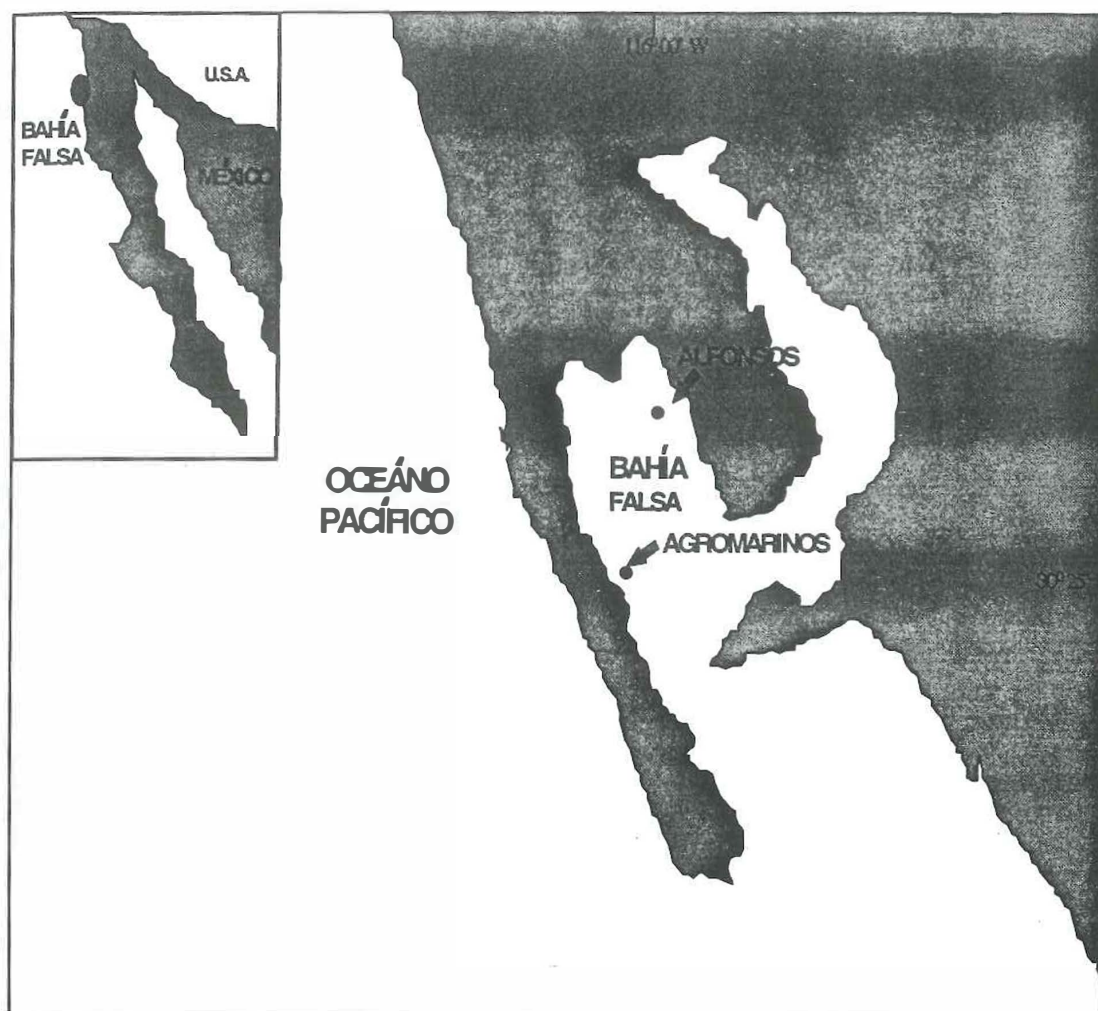


Figura 3. Localidades de muestreo en Bahía Falsa, Baja California, México. Agromarinos ubicado hacia la boca de la bahía y Alfonsos ubicado en la parte interna.

La sarta fue dividida en tres segmentos, de aproximadamente 50 cm de longitud, a los cuales se les asignó el nombre de acuerdo a su nivel en la propia sarta (nivel superior, medio e inferior), en cada uno de estos niveles se colectaron entre 10 y 20 organismos para el estudio.

Durante los muestreos comprendidos de mayo de 1996 a abril de 1997 se registró la temperatura (°C) y salinidad (ppm), en cada localidad con un termómetro y refractómetro, respectivamente. De enero a marzo de 1997 se instaló un termógrafo marca Ryan, en cada una de las localidades de muestreo y el termógrafo se programó para el registro de temperatura cada hora. La salinidad se continuó registrando puntualmente durante los muestreos.

II.3 Procesamiento de las muestras

II.3.1 Revisión de los especímenes a nivel macroscópico

Una vez extraídas las sargas se limpiaron y separaron los organismos por niveles, se contabilizó el número de organismos vivos y muertos por nivel y se transportaron al Laboratorio de Patología del CICESE. Los ostiones vivos se colocaron individualmente sobre cajas de Petri para recuperar el líquido intervalvar. Se midió la longitud total del organismo (T), el peso total del organismo (PT), el peso húmedo de la carne (PHC) y el peso de la concha (PC); con estos valores se calculó el Índice de Condición del organismo (Aguirre, 1979):

$$IC (\%) = \{ PHC / (PT - PC) \} \times 100 \quad (1)$$

Este índice permite conservar íntegro el tejido blando del ejemplar para la realización de estudios histopatológicos. Una vez que se obtuvo la talla total y el peso total de los organismos, se realizó el análisis macroscópico que incluyó la revisión del organismo al microscopio estereoscópico para determinar la presencia de parásitos, tanto en el organismo como en el líquido intervalvar recuperado en las cajas Petri y/o en la parte externa e interna de las conchas del mismo.

II.3.2. Prevalencia y grado de infestación

Se determinó la prevalencia de los parásitos y comensales encontrados en el ostión. Prevalencia se define como el número de ostiones infectados (OI) entre el número de ostiones examinados (OE) expresados como porcentaje.

$$PE (\%) = \{OI/OE\} \times 100 \quad (2)$$

Además, se estimó el grado de infestación que se define como el número de parásitos por ostión.

Para el caso particular de presencia de ampollas en la cara interna de las valvas del ostión producidas por organismos perforadores, se utilizaron 2 métodos de evaluación: 1) Para cada ostión se cuantificó el número de ampollas formadas por los organismos perforadores y 2) se hizo una estimación del área de la ampolla y del interior de la valva, obteniendo sus moldes en papel aluminio; estos moldes representaban la forma de la ampolla y área total de la cara interna de la concha. El molde de la ampolla fue cuidadosamente cortado y pesado. Previamente se cortaron cuadrantes de hojas de papel aluminio de 5 a 25 mm², los cuales fueron pesados obteniéndose la siguiente

ecuación de regresión lineal por mínimos cuadrados [área de aluminio (mm^2) = $10.9044 (\text{mm}^2) + 133.077 X (\text{mm}^2/\text{mg})$, X es el peso (mg) del papel aluminio, $r^2 = 0.91$, $n = 40$]. Las superficies del interior de la concha de ostión y de la ampolla se calcularon utilizando los pesos de los moldes obtenidos.

Las prevalencias se correlacionaron por regresión lineal con el Índice de Condición (IC) del ostión, respecto a la profundidad y a las localidades.

Para estimar la mortalidad, se hicieron conteos de conchas vacías encontradas en la sarta. La talla e inclusiones en la cara interna de estas conchas permitió determinar si la mortalidad ocurrió antes o después del estudio y estos conteos fueron realizados mensualmente. A esto me referiré como mortalidad mensual. Por otro lado, se consideró como mortalidad acumulada la suma de las mortalidades registradas en cada mes para cada sitio.

II.3.3 Revisión de los especímenes a nivel microscopio

Se procesaron los especímenes mediante técnicas histológicas utilizando la técnica de tinción de hematoxilina-eosina (NOAA, 1983).

El cuerpo blando de los ostiones se fijó inmediatamente después de la revisión macroscópica en líquido de Davidson durante 24 h (Shaw y Battle, 1957) en una relación de volumen de 1:5. Posteriormente, de cada espécimen se cortó una sección transversal oblicua de aproximadamente 5 mm de ancho de tal forma que quedara incluido el manto, glándula digestiva, branquias, riñones y gónadas del organismo (Fig. 4). Estos cortes se colocaron en un contenedor de plástico y fueron depositados en un frasco con solución

de Davidson conservante hasta el momento en que se realizó la deshidratación e inclusión en parafina. Las muestras se incluyeron en parafina (ver protocolo apéndice 1) y posteriormente con un microtomo (marca American Optical) se hicieron cortes de 5 micras de espesor, los cuales se montaron en portaobjetos y se tiñeron con hematoxilina-eosina (ver apéndice 2). Las laminillas histológicas se revisaron al microscopio para la determinación de la presencia de parásitos, su ubicación y daños asociados. La revisión de las muestras se hizo con los objetivos de 20x, 40x y 100x, y se analizaron en forma sistemática, realizando un barrido en zigzag longitudinal a la posición del corte (Fig. 4), las mediciones se realizaron con ayuda de un micrómetro y se tomaron fotografías de los parásitos y daños asociados.

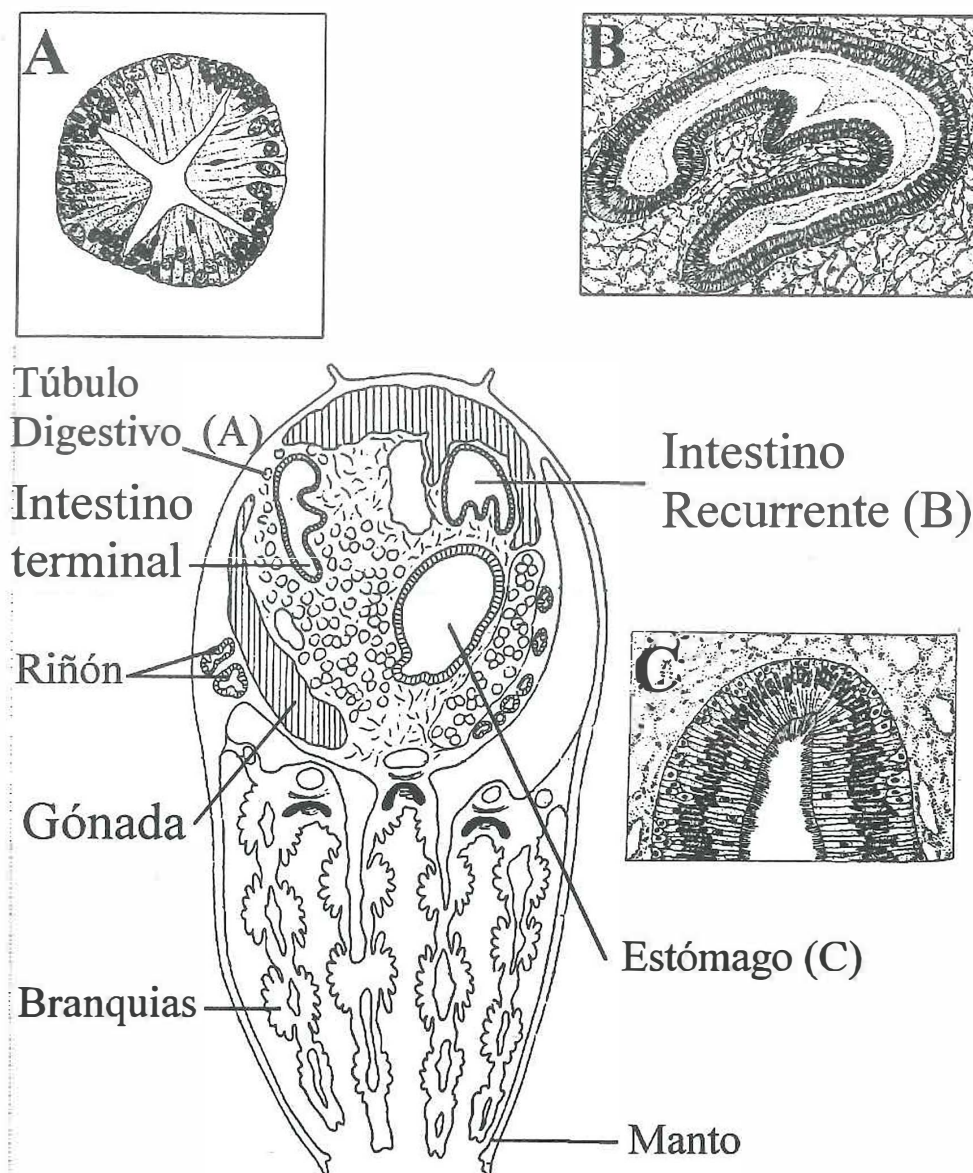


Figura 4. Corte transversal de *Crassostrea gigas*, donde se muestran los órganos utilizados para evaluar la carga parasitaria. En el recuadro (A) se muestra la estructura interna de un túbulo digestivo, observándose el lumen con forma de cruz en la parte central de la estructura. En el recuadro (B) se observa el tejido columnar ciliado en las paredes del intestino y en el estómago (C).

II.4 Análisis de datos

1.- Para determinar diferencias de la prevalencia de los parásitos entre localidades, se utilizó la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney.

2.- La prueba t de Student se utilizó para comparar si existen diferencias significativas en la talla de los ejemplares y en temperatura y salinidad.

3.- Se utilizó el análisis de ANOVA anidado para determinar si existían diferencias en el Índice de Condición (IC) y la mortalidad de los ostiones provenientes de las dos localidades, meses y profundidades.

4.- Se hizo una correlación del IC de los ejemplares muestreados contra el número de parásitos encontrados durante el periodo de muestreo. También se correlacionó la mortalidad registrada con el número de parásitos.

5.- Se comparó el grado de infestación de los cuerpos de inclusión de tipo haplosporidios entre localidades y respecto a la profundidad utilizando la prueba de Kruskal-Wallis.

6.- Entre localidades se comparó la temperatura registrada por los termógrafos, con un análisis de datos pareados utilizando la prueba prueba T.

III RESULTADOS

III.1 Análisis de los especímenes a nivel macroscópico

A nivel macroscópico en los ostiones analizados de mayo de 1996 a abril de 1997 en Agromarinos y Alfonsos no se observó la presencia de parásitos ni lesiones en el tejido blando del organismo (manto, branquias, palpos branquiales y glándula digestiva). Sin embargo, en el líquido intervalvar de los mismos se observó la presencia de ácaros, larvas de insectos y nemátodos. Finalmente en la parte interna de las valvas del ostión se observaron ampollas en cuyo interior se observó un gusano perforador del género *Polydora* sp (Fig. 5). En tres ocasiones se observaron ampollas de agua, es decir ampollas no asociadas con la presencia de gusanos poliquetos.

III.1.1 Revisión de la parte interna de las valvas

III.1.1.1 Identificación del gusano perforador

El gusano encontrado en la parte interna de las valvas de *C. gigas* es un gusano poliqueto de la familia Spionidae del género *Polydora*. Este es un organismo metamérico, con segmentos corporales cilíndricos idénticos, provistos cada uno por un par de apéndices carnosos laterales, parecidos a pequeños remos y llamados parapodios de acuerdo con Light (1978); Blake (1996) y Barnes (1986). Los Spionidos del género *Polydora*, han modificado el quinto segmento o setiger en una espina fuerte y especializada. Esta espina se observó en los gusanos encontrados y tenía una forma de gancho, así como también se pudieron observar las setas que las acompañan, hacia la parte superior del cuerpo del organismo se observó la presencia de palpos desarrollados, se observó en el extremo anterior del verme, un prostomio bien desarrollado, la

presencia de ojos en ocasiones fue evidente y no se encontraron antenas, todas estas características morfológicas indican que la especie puede ser *Polydora limicola* Annenkova, 1934. Sin embargo, su comportamiento perforador sobre la concha del ostión sugiere que se trata de la especie *Polydora ciliata* Johnson (Fig. 5).

Los gusanos fueron encontrados individualmente formando canales en forma de "U". La longitud total de los gusanos (talla) varió de 0.5 mm a 10.4 mm, con promedio de 4.3 mm y un error típico de ± 0.76 mm. Los gusanos perforadores fueron más abundantes en las valvas derechas en 77 % en Agromarinos y un 76 % en Alfonsos, que en las izquierdas (definiéndose para *Crassostrea gigas*, la valva izquierda aquella de forma acopada y la valva derecha la de forma plana). El área de ocupación de las ampollas y su relación con el área interna de las valvas en ambas localidades se muestra en la Tabla 1. El rango del área de una sola ampolla varió de 1.05 a 4.68 mm², con un porcentaje de ocupación en la valva del hospedero de 0.18 % a 0.96 %. En tres ocasiones fueron encontradas ampollas de agua con un área aproximada de 9.7 mm², sin embargo, en el interior de estas ampollas no se encontraron gusanos.

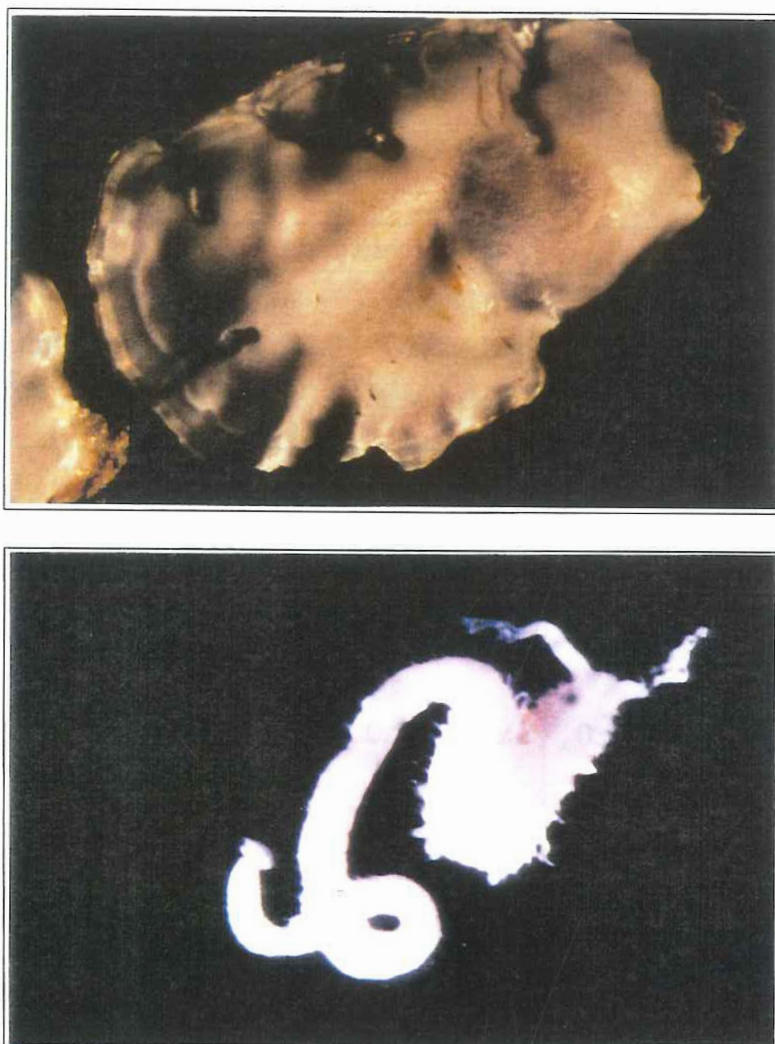


Figura 5. Presencia de ampollas de lodo encontradas en la parte interna de las valvas de *Crassostrea gigas* (A) y al gusano perforador que las forma *Polydora* sp. (B).

Tabla I. Rangos (R) y promedios (P) del área de ocupación de las ampollas y de la superficie interna de las valvas de los ostiones de ambas localidades. ($\pm$) error típico.

		Agromarinos		Alfonso	
Valva		Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha
Área ampolla (mm ²)	R	2.66 - 4.68	2.68 - 4.20	1.05 - 2.95	1.22 - 3.45
	P	3.30 $\pm$ 0.07	2.94 $\pm$ 0.05	2.03 $\pm$.078	2.65 $\pm$ 0.16
Área valva (mm ²)	R	391.9 - 819.90	267.7 - 589.45	280.1 - 641.30	248.2 - 454.9
	P	538.1 $\pm$ 2.41	402.3 $\pm$ 19.07	474.7 $\pm$ 7.35	345.7 $\pm$ 16.7
Ocupación de ampolla / valva (%)	R	0.44 - 0.77	0.26 - 0.96	0.42 - 0.88	0.18 - 0.6
	P	0.64 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.12	0.58 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.1
Ocupación total de ampollas en ambas valvas (%)	R		0.16 - 1.02		0.13 - 0.81

III.1.1.2 Relación de la presencia de *Polydora* sp. con el IC del ostión japonés

La estimación de la relación entre el Índice de Condición de los ostiones con el número de ampollas y el área total de la ampolla por ostión se muestra en la Figura 6. No se observó una correlación entre Índice de Condición y el número de ampollas ni con el área total de ampollas por ostión.

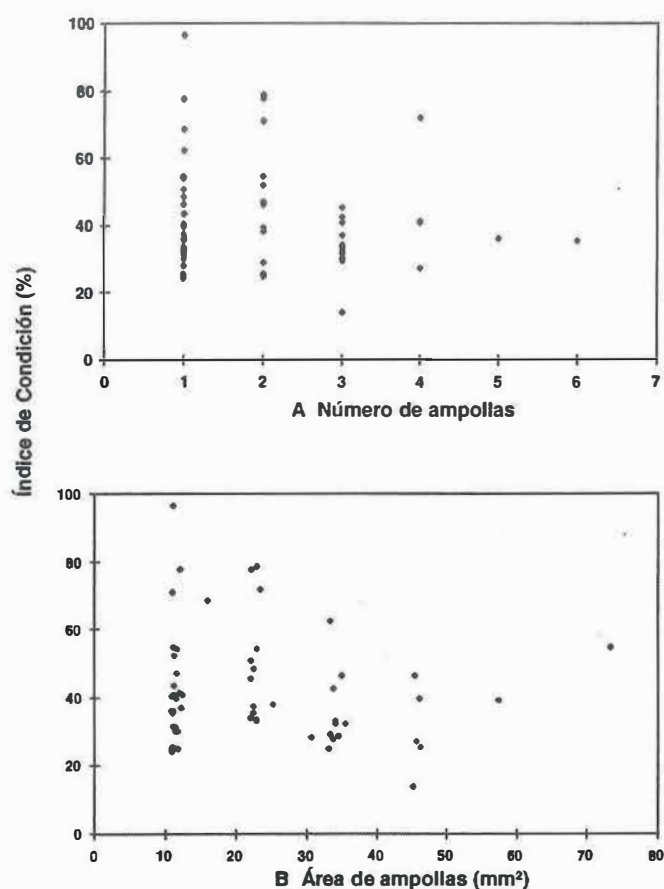


Figura 6. Relación entre Índice de Condición con el número de ampollas (A) y con el área de la ampolla por ostión (B).

III.1.1.3 Prevalencia de *Polydora* sp. en *Crassostrea gigas*

En Agromarinos, la mayor prevalencia fue registrada de junio a agosto de 1996 y la menor fue en los meses de noviembre y diciembre de 1996 y en abril de 1997 (Fig. 7A). La prevalencia de *Polydora* sp. con respecto a la profundidad fue mayor en los ostiones del nivel inferior de la sarta que en el nivel medio y superior. Donde el número de gusanos por hospedero varió de 1 a 6, registrándose el mayor número de gusanos por hospedero de junio a septiembre de 1996 (Tabla II).

En Alfonsos, la mayor prevalencia se registró en junio de 1996 y las menores prevalencias en octubre y diciembre de 1996. En el nivel inferior se tuvo la mayor prevalencia comparativamente con los otros niveles (Fig. 7B). El número de gusanos por hospedero varió de 0 a 3 y el mayor valor ocurrió en junio en el nivel inferior (Tabla II). Al hacer una comparación global entre la prevalencia de las dos localidades se encontró que la prevalencia de *Polydora* sp. fue mayor en los ostiones de Agromarinos que en Alfonsos (Prueba de Mann-Whitney, $T = 908$, $p < 0.01$).

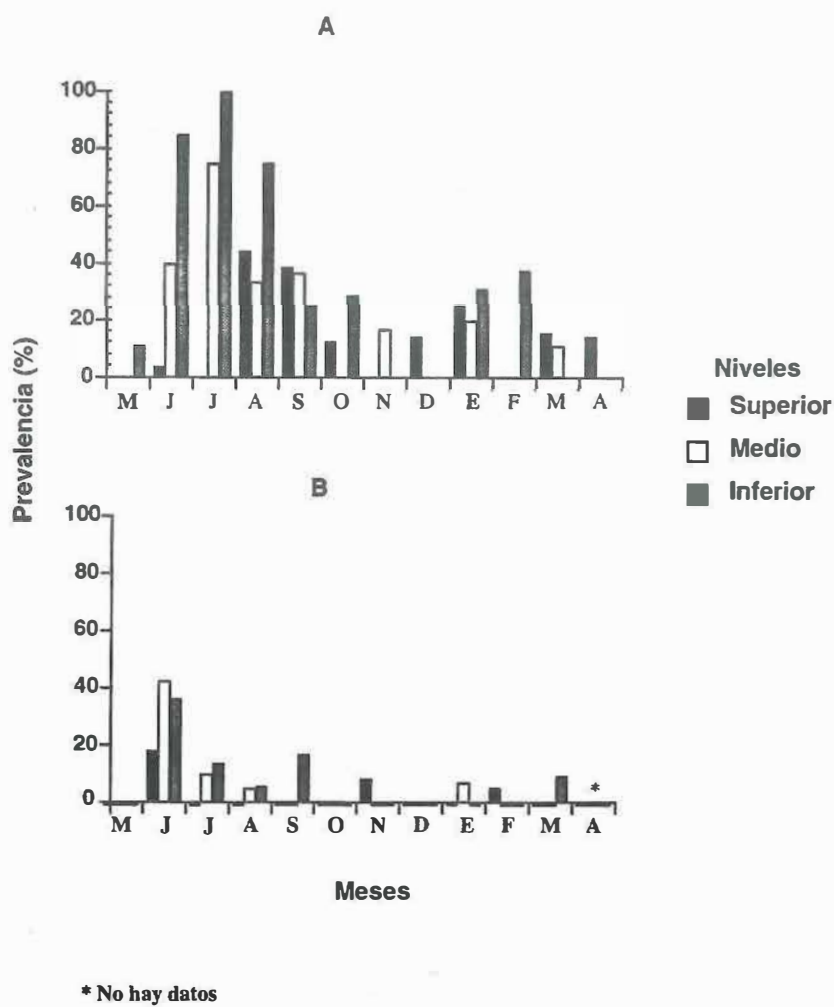


Figura 7. Prevalencia de *Polydora* sp. a tres niveles de profundidad y en dos localidades. Agromarinos ubicado hacia la parte exterior de Bahía Falsa B.C. (A) y Alfonsos ubicado en la parte interna de la misma (B).

Tabla II. Rango de *Polydora* sp. por ostión, *Crassostrea gigas* por niveles y localidades durante el período de estudio. (*) no hay datos.

Nivel Sarta	Agromarinos			Alfonso		
	Superior	Medio	Inferior	Superior	Medio	Inferior
1996						
mayo	0	0	1-2	0	0	0
junio	1	1-2	1-4	1	1	1-3
julio	0	1-4	1-6	1	1	1-3
agosto	1-3	1-2	1-3	0	1	1-3
septiembre	1-4	13	1-4	0	0	1
octubre	1	0	0	1	0	0
noviembre	0	0	0	1	0	0
diciembre	0	0	0	0	0	0
1997						
enero	1-2	1	1-3	0	0	0
febrero	0	1	0	0	0	0
marzo	0	0	0	0	0	0
abril	0	0	0	*	*	*

No se detectó relación entre el número de *Polydora* sp. y el IC de los ostiones examinados en ambas localidades (Agromarinos $R^2 = 0.0051$; Alfonso $R^2 = 0.18$), así como tampoco se encontró ninguna relación con la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo (Agromarinos $R^2 = 0.0008$, Alfonso $R^2 = 0.0001$). Ocasionalmente se observó la presencia de ampollas en el interior de las valvas de los ejemplares muertos, estas ampollas se encontraron cubiertas por una gruesa capa de concha, esto indicó que no fueron formadas recientemente y por ello no se encontró al gusano que las forma.

III.1.1.1.4 Relación del IC del ostión japonés con la profundidad y la localidad de muestreo

Al comparar el promedio del IC de los ostiones entre localidades y con respecto a la profundidad, se encontró que los ostiones de Agromarinos registraron mayores IC que los ostiones de Alfonsos ($F_{(1,789)} = 37.75$, $p < 0.001$). Durante el periodo de muestreo en ambas localidades, el IC de los ostiones fue variable ($F_{(20,789)} = 9.36$, $p < 0.001$) (Fig. 8). En Agromarinos, en junio y diciembre de 1996 se registraron los mayores IC, el menor IC se registro en julio 1996 (Fig. 8A). En Alfonsos, los mayores IC se registraron en febrero y marzo 1997 y los menores IC en septiembre 1996 (Fig. 8B).

En ambas localidades los ostiones del nivel inferior de la sarta registraron menores IC que aquellos cercanos a la superficie ($F_{(44,789)} = 3.1$, $p < 0.001$).

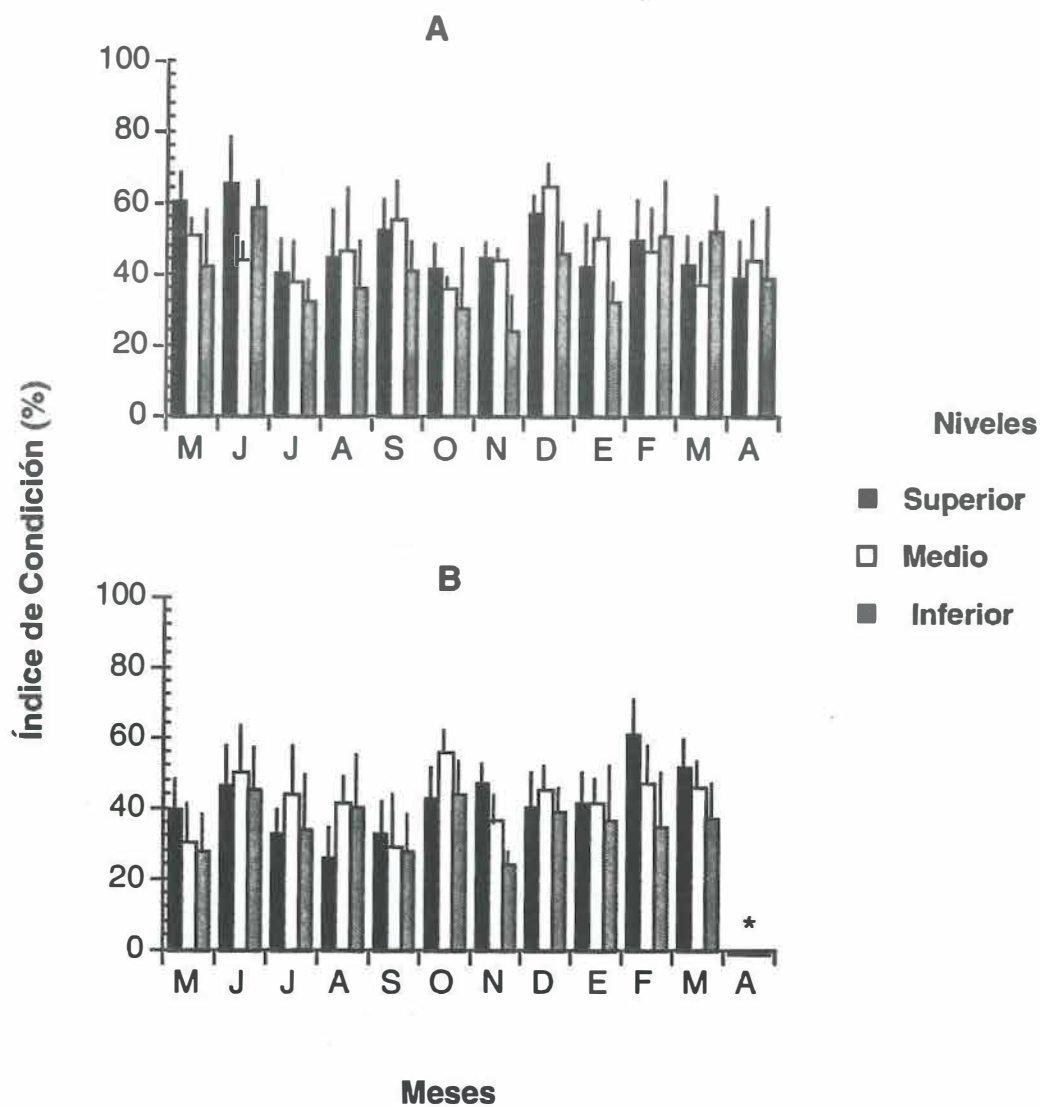


Figura 8. Índice de Condición (IC) de *Crassostrea gigas* a tres niveles de profundidad y en dos sitios de muestreo (A) Agromarinos y (B) Alfonsos.

* No hay Datos. La línea sobre las barras indica el error típico.

I.I.I.1.2 Organismos presentes en el cuerpo-blando

I.I.I.1.2.1 Ácaros

Se observaron ácaros vivos en el líquido intervalvar de los ostiones muestreados en Alfonsos, la longitud total mínima de los ácaros fue de 0.19 mm y la máxima de 0.49 mm, con promedio de 0.31 mm $\pm$ error típico de 0.06 mm. Los ácaros presentaron una coloración café ámbar con pequeñas manchas de color blanco sobre el caparazón. Sus estructuras anatómicas externas se mencionan posteriormente. El orden Acarina comprende a la superfamilia Hydrachnellae Latreille, la cual incluye a la familia Pontarachnidae Thor; en esta familia se encuentran ácaros marinos que habitan en el litoral marino (Baker y Warthon, 1952) con las siguientes características morfológicas externas: a) el cuerpo está cubierto en su totalidad por un sólo caparazón y sus patas las presenta en posición más o menos radial; b) rostrum no elongado y mucho más corto que los palpos; c) la forma de los órganos genitales es parecida a una valva (Baker y Warthon, 1952). Todos los ácaros encontrados presentaron las mismas características morfológicas externas (forma, color y estructura anatómica) indicando que dichos ácaros pertenecieron a una misma especie (Fig. 9).



Figura 9. Ácaros encontrados en *Crassostrea gigas* con características morfológicas pertenecientes a la familia Pontarachnidae Thor, 1929. Observándose un caparazón que cubre al cuerpo y las patas en posición radial.

En la Figura 10 se presenta la prevalencia de los ácaros registrada durante el periodo de muestreo en Alfonsos. Se observa la presencia de los ácaros durante el periodo de muestreo predominantemente en aquellos ostiones colocados en el nivel medio de la sarta. El mes que registró la mayor prevalencia fue marzo de 1997. No se encontró más de un ácaro por ostión.

En los ostiones de Agromarinos, no se observó la presencia de ácaros marinos durante el periodo de muestreo.

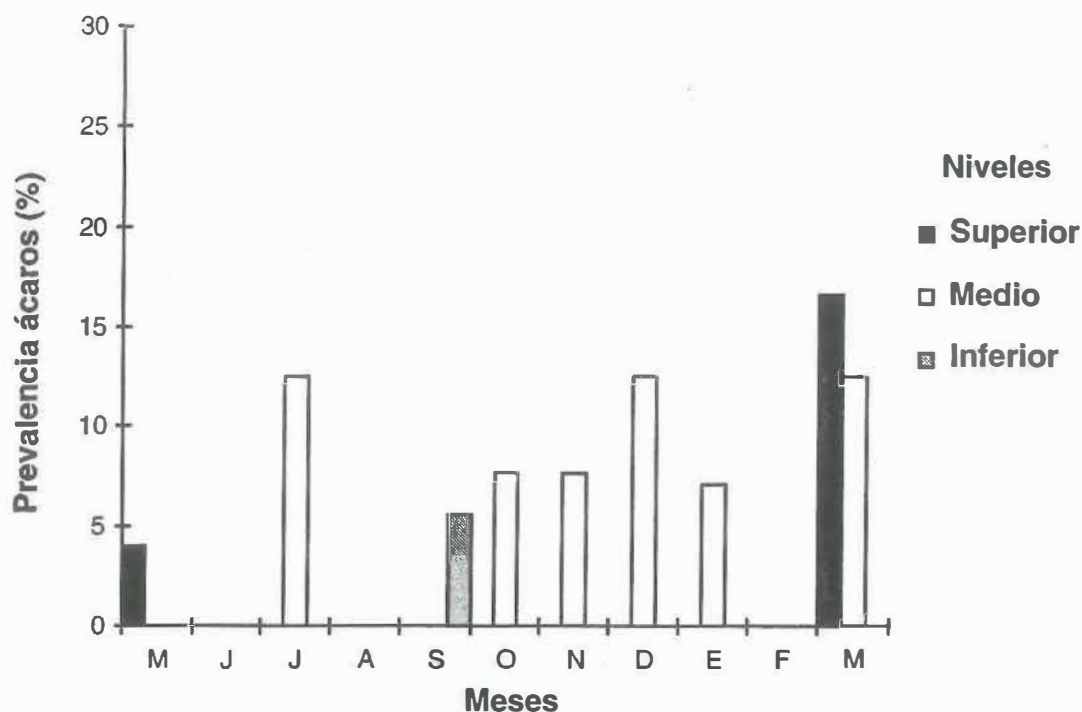


Figura 10. Prevalencia de ácaros registrada durante el periodo de muestreo en Alfonsos.

I.I.I.1.2.2 Larvas de insectos

Se encontraron larvas vivas de insecto en el líquido intervalvar de los ostiones cultivados en Alfonsos (Fig. 11). Con base en las características morfológicas externas de las larvas éstas se pueden clasificar como larvas de insecto de la especie *Tethymyia aptena*, pertenecientes a la familia Chironomidae (familia de moscas de agua voladoras), se conoce a este grupo de dípteros como el más adaptado a áreas costeras marinas. Las larvas de *T. aptena* son de forma alargada y segmentada, hacia la cabeza el segundo segmento es mayor que el tercero, sus alas son vestigiales, las larvas alcanzan una

hasta de 4 mm de longitud (la talla mínima registrada en los ejemplares encontrados fue de 1.8 mm, la máxima de 4.2 mm con un promedio de 2.32 mm), el cuerpo es de color blancuzco, la cabeza color café oscuro o casi negro, presenta ganchos en los pseudópodos anteriores (apéndices como patas) de color ámbar y ganchos en los pseudópodos posteriores de color negro (Smith y Carlton, 1975; Morris *et al.*, 1980). Todas las larvas encontradas durante el período de muestreo presentaron estas características observándose únicamente variaciones en la talla.

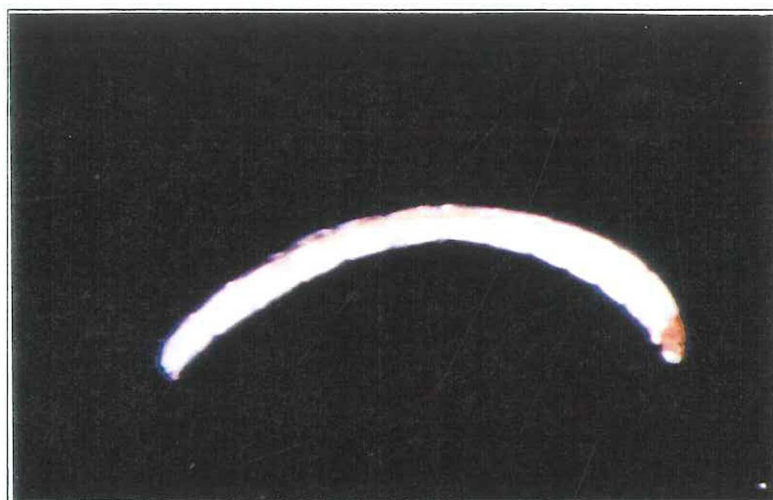


Figura 11. Características morfológicas de las larvas de insecto encontradas en *Crassostrea gigas*. Cuerpo alargado y segmentado (12 segmentos en total), hacia la parte posterior del cuerpo se observa la estructura de la cabeza. No se observa la presencia de alas en el cuerpo de la larva.

La prevalencia de las larvas de insecto en los ostiones cultivados se registró mayormente de septiembre de 1996 a enero de 1997, con valores de prevalencia menores al 20 %, en los ostiones colocados en el nivel medio y superior de la sarta (Fig. 12).

En los ostiones de Agromarinos no se observó la presencia de larvas de insecto durante el periodo de muestreo.

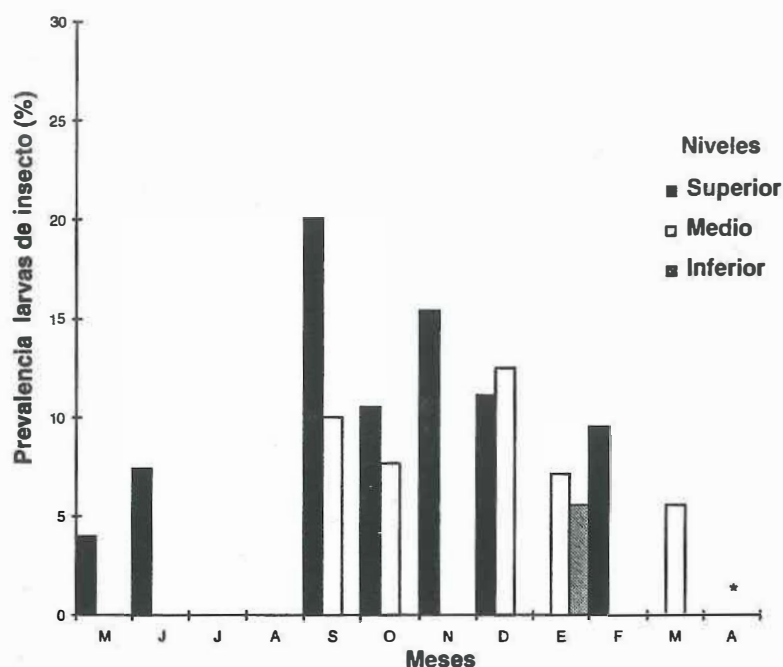


Figura 12. Prevalencia de las larvas de insecto encontradas en el ostión japonés *Crassostrea gigas* de Alfonsos.

I.I.I.1.2.3 Nemátodos

Durante el período de muestreo se encontraron nemátodos en el líquido intervalvar de los ostiones analizados en ambas localidades de Bahía Falsa.

Los nemátodos son llamados comúnmente gusanos redondos y son fácilmente reconocibles por su cuerpo elongado, cilíndrico o fusiforme, afilado en los extremos anterior y posterior, donde no hay diferenciación de la cabeza al resto del cuerpo, el ano es ventral y le sigue una cola a veces estrecha o incurvada (Barnes, 1986). Se consideró a organismos encontrados en los ostiones de Agromarinos y Alfonsos como nemátodos, ya que presentaban un cuerpo elongado, la cutícula del cuerpo no presentaba segmentación y estaba afilado hacia los extremos anteriores y posteriores, la cabeza tampoco estaba diferenciada del resto del cuerpo y presentaban una cola de forma incurvada y más estrecha que el resto del cuerpo (Fig. 13). La talla máxima de los nemátodos encontrados en los ostiones de Agromarinos fue de 2.41 mm, la mínima de 0.52 mm y la talla promedio $0.97 \text{ mm} \pm \text{error típico de } 0.31$. Los ostiones de Alfonsos presentaron una talla máxima de 1.48 mm, la mínima de 0.52 mm y el promedio de $0.64 \text{ mm} \pm \text{error típico de } 0.1 \text{ mm}$.

Warwick (1975) menciona que la clasificación taxonómica de los nemátodos no está bien establecida debido a que han sido estudiados independientemente por parasitólogos, patólogos vegetales y especialistas en animales libres y donde la desventaja más común en su clasificación es la falta de claves para su identificación. En las claves existen características morfológicas como la anatomía del sistema excretor, el

arreglo de las estructuras cefálicas y las setas, así como las estructura de anfidios son importantes para distinguir a nivel de las taxas superiores (Warwick, 1975).

Chitwood (1960) clasificó a los nemátodos en dos subclases (Adenophora y Secernentea), basándose en la forma de las estructuras de los órganos sensoriales (anfidios o fasmidios). Los nemátodos pertenecientes a la Subclase Adenophora, presentan anfidios bien desarrollados (estructuras sensoriales que se ubican en el área de la boca, observándose los poros anfidiales en la superficie del cuerpo como pequeños ojos). Los nemátodos pertenecientes a la Subclase Secernetea presentan fasmidios (depresiones localizadas hacia la cola del organismo, formando diminutos puntos sobre la cutícula del cuerpo). Se observó que los nemátodos encontrados presentaban hacia la parte posterior del cuerpo diminutos orificios con forma parecida a un pequeño ojo y que corresponderían a los poros anfidiales, por lo tanto es muy posible que pertenezcan estos nemátodos a la Subclase Adenophora, la cual comprende 450 géneros que viven en hábitat marinos y en su mayoría son especies de vida libre.

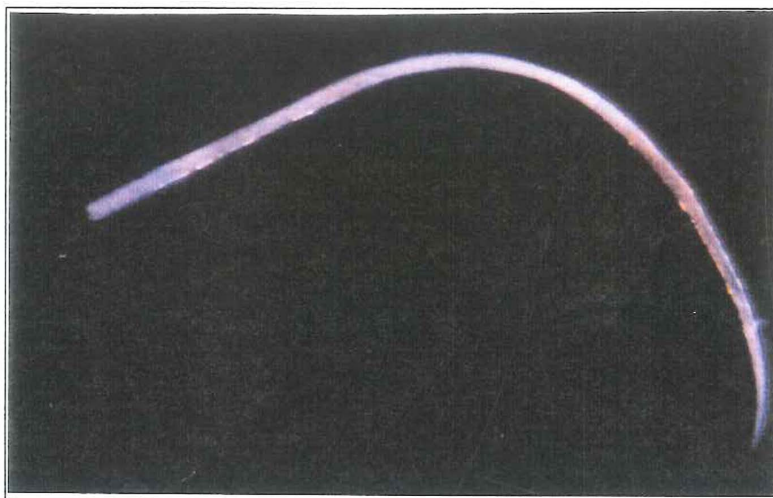


Figura 13. Nemátodos encontrados en el líquido intervalvar de *Crassostrea gigas*.

La presencia de los nemátodos fue constante durante el periodo de muestreo, así como indistintamente del nivel en el que los ostiones estaban colocados en la sarta. La mayor prevalencia de nemátodos en los ostiones de Agromarinos se registraron en julio de 1996 y abril de 1997 y para Alfonsos en mayo de 1996. Para Agromarinos, en promedio, se observaron 4 nemátodos por ostión y para Alfonsos 6 nemátodos por ostión (Fig. 14).

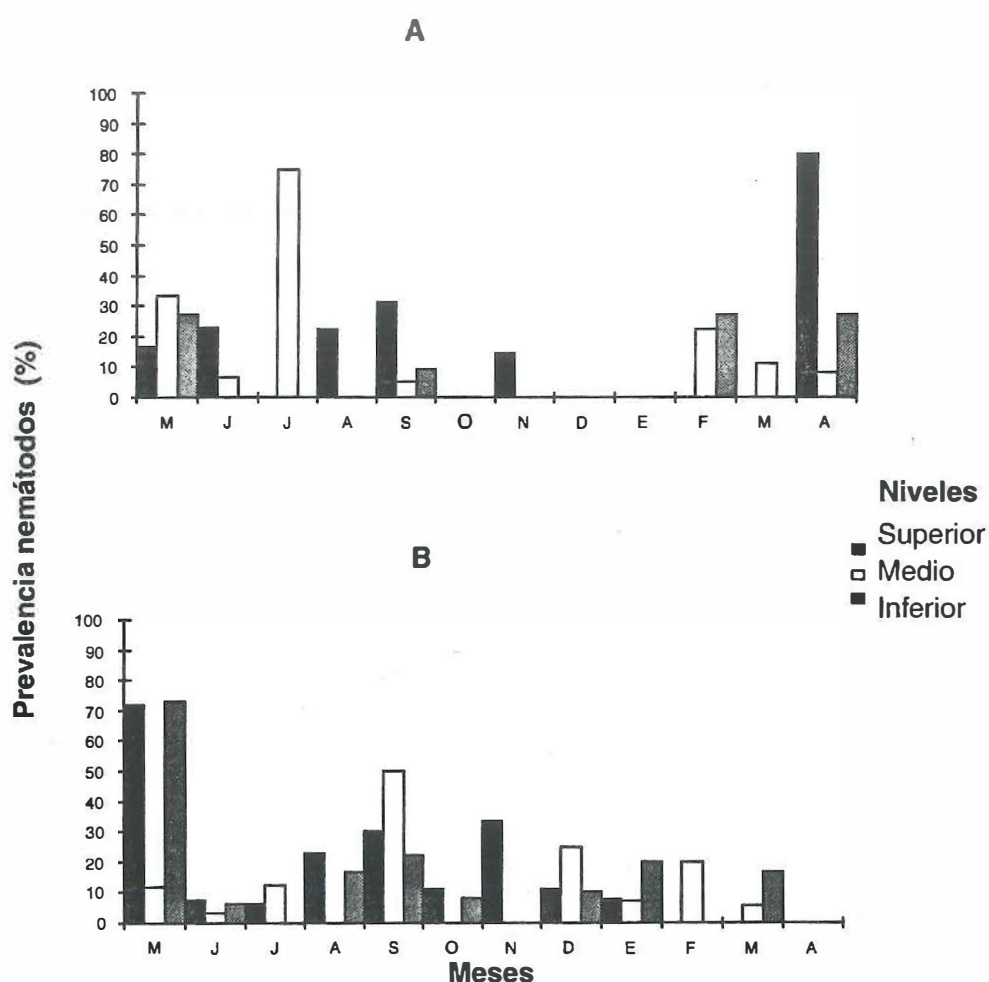


Figura 14. Prevalencia de nemátodos en los ostiones cultivados en (A) Agromarinos y (B) Alfonsos.

III.2 Análisis histopatológico

De manera general el análisis histopatológico reveló la presencia de bacterias en forma de bacilos en tejido conectivo de la glándula digestiva, también se observó la presencia de cuerpos de inclusión con características morfológicas externas similares a parásitos protozoos tipo haplosporidios. Partiendo del hecho de que un cuerpo de inclusión tipo haplosporidios puede presentarse en un hospedero en dos fases de desarrollo formas de plasmodio y/o de esporangio infestando el epitelio de túbulos digestivo del mismo. Por otro lado, en algunos casos se observó la presencia de cuerpos de inclusión que se asemejan a células infestadas por microorganismos procariontes tipo *Rickettsia* en túbulos digestivos.

III.2.1 Bacterias

A principios de verano de 1996 se observó la presencia de bacterias en forma de bacilos, dispersas en el tejido conectivo de la glándula digestiva de algunos ostiones de Bahía Falsa, así como en el lumen de intestino y estómago (Fig. 15). En Agromarinos, únicamente el mes de mayo de 1996 se observó la presencia de bacterias en 7.4 % de los ostiones analizados. En Alfonsos se observó la presencia de bacterias sólo en el mes de junio de 1996 en 13.3 % de los ostiones analizados. Sólo en un caso, un ostión de Alfonsos, presentó una invasión masiva de bacterias en el intestino y estómago. En general el epitelio de la glándula digestiva de este organismo presentaba lesiones. En el resto de los casos tanto para Agromarinos como Alfonsos, se observó en menor cantidad la presencia de bacterias.

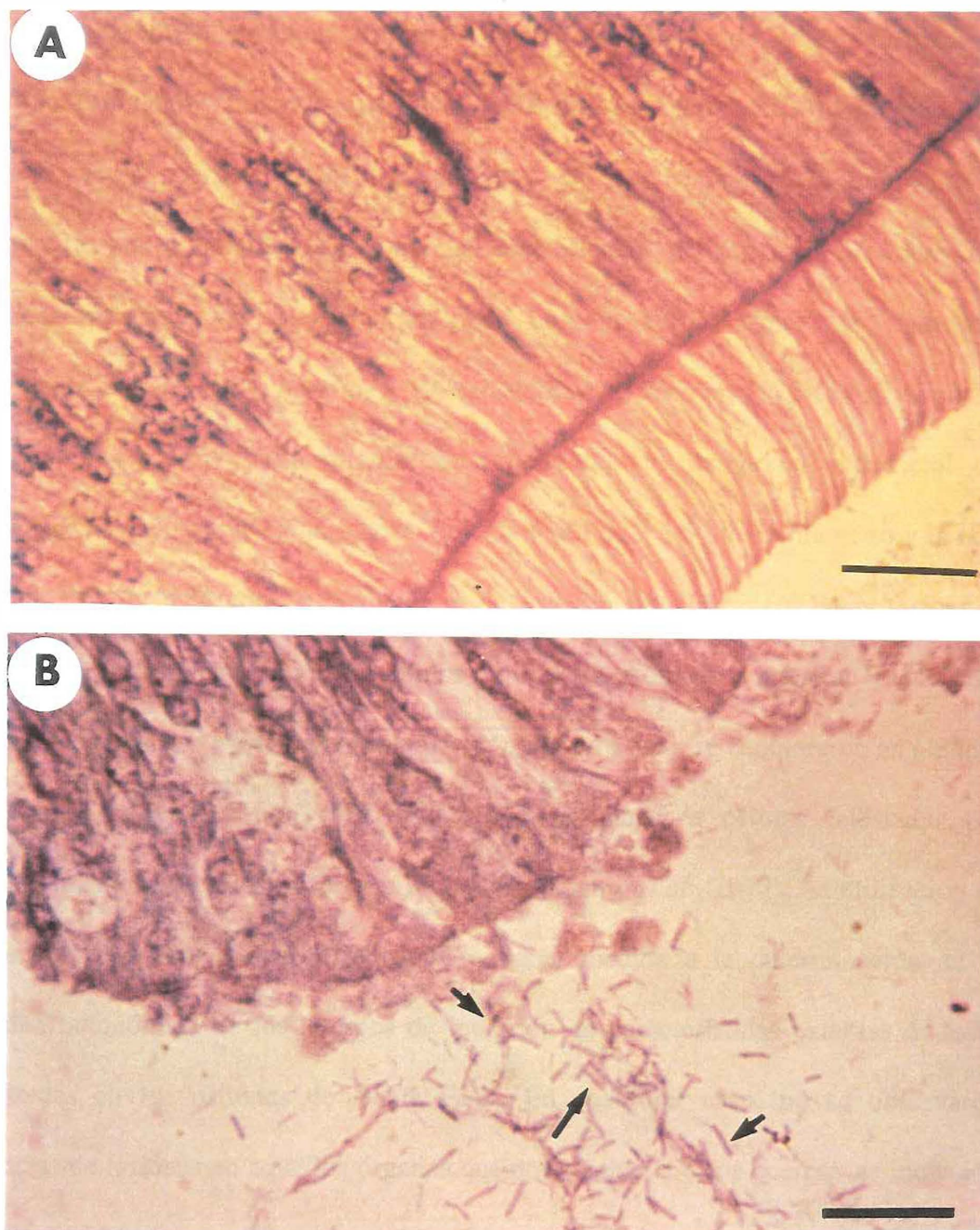


Figura 15. (A) Tejido columnar ciliado sano y (B) presencia de bacterias tipo bacilos dispersas en el lumen del estómago (flecha), se observa la ausencia de cilios en este órgano. Escala de la barra = 20 y 5 μm respectivamente.

III.2.2 Cuerpos de inclusión tipo haplosporidios

Se determinó la presencia de cuerpos de inclusión infestando la glándula digestiva (intestino, estómago y túbulos digestivos) de los ostiones cultivados en Agromarinos y Alfonsos, estos cuerpos presentaron similitud en sus características morfológicas externas (forma y tamaño) así como en especificidad de órganos infestados con protozoos parásitos de tipo haplosporidio con la forma típica de plasmodio (Kleinschuster *et al.*, 1994; Friedman, 1996; Katkansky y Warner, 1970). Los cuerpos de inclusión presentaron forma circular bien definida, su membrana superficial era homogénea es decir sin irregularidades. Su talla varió de 3 a 5 μm de diámetro y la talla promedio fue de 3.84 con un error típico de $\pm 0.125 \mu\text{m}$ (Fig. 16). Estas formas se encontraron predominantemente en túbulos digestivos, estómago e intestino y en menor frecuencia en manto o branquias (Tabla III y V). Por otro lado, se encontraron en algunos casos, cuerpos de inclusión (Fig. 17) que se asemejan a células infestadas por microorganismos procariontes de tipo Rickettsia (Comps *et al.*, 1977). La utilización de microscopía electrónica podría contribuir en gran medida a la determinación de la identidad taxonómica de los cuerpos de inclusión de características externas dudosas encontradas en los ostiones de Bahía Falsa. En cualquier caso, no se observaron evidencias de lesiones en aquellos órganos que presentaban a estos cuerpos de inclusión en el hospedero.

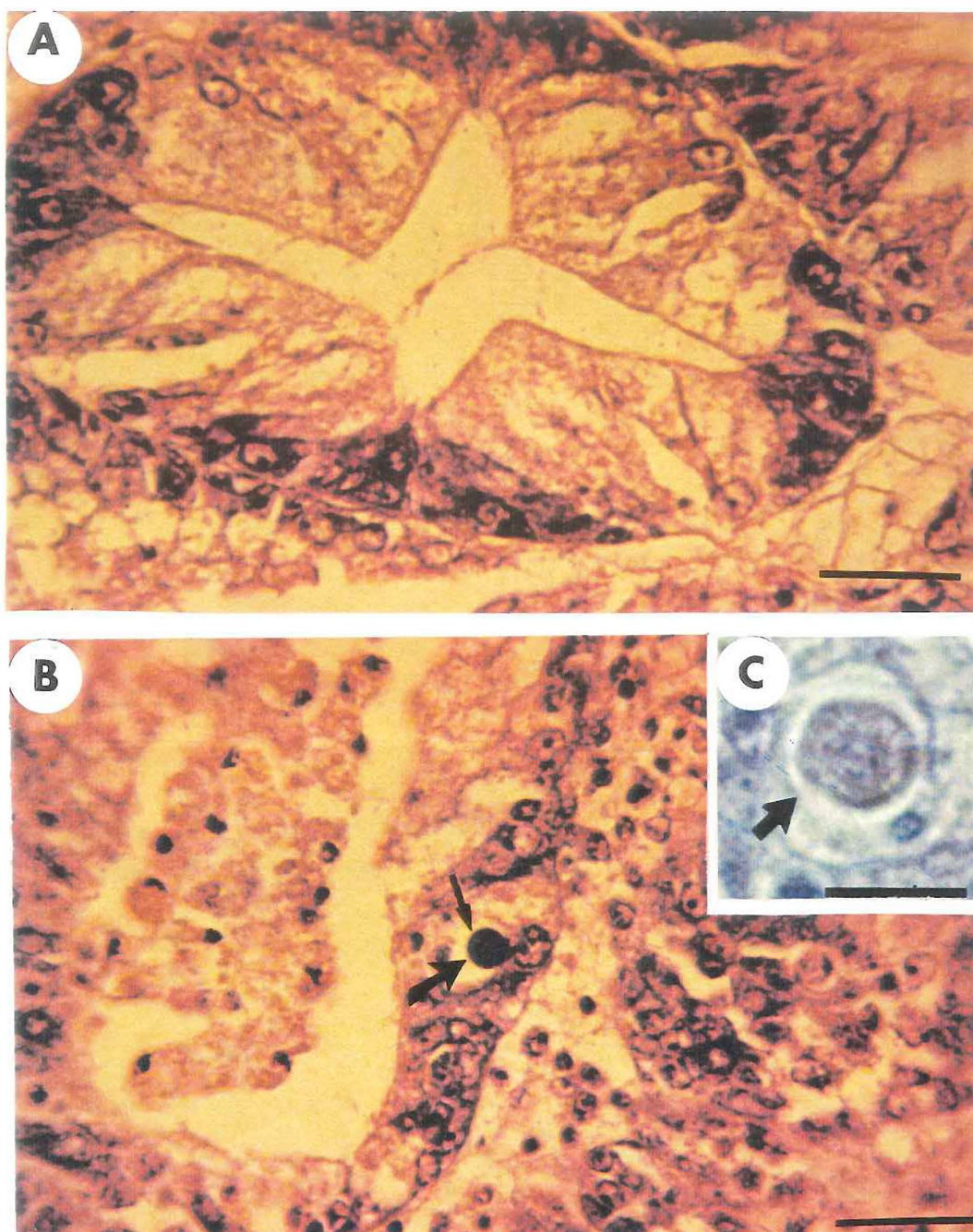


Figura 16. (A) Túbulo digestivo sano y (B) cuerpos de inclusión de tipo haplosporidios en el interior de las células digestivas de los túbulos digestivos de *Crassostrea gigas* (flecha). Se observa dentro del haplosporidio esporas (flecha). Escala de la barra = 20 μm . (C) Detalle del cuerpo de inclusión (flecha) a mayores aumentos. Escala de la barra = 10 μm .

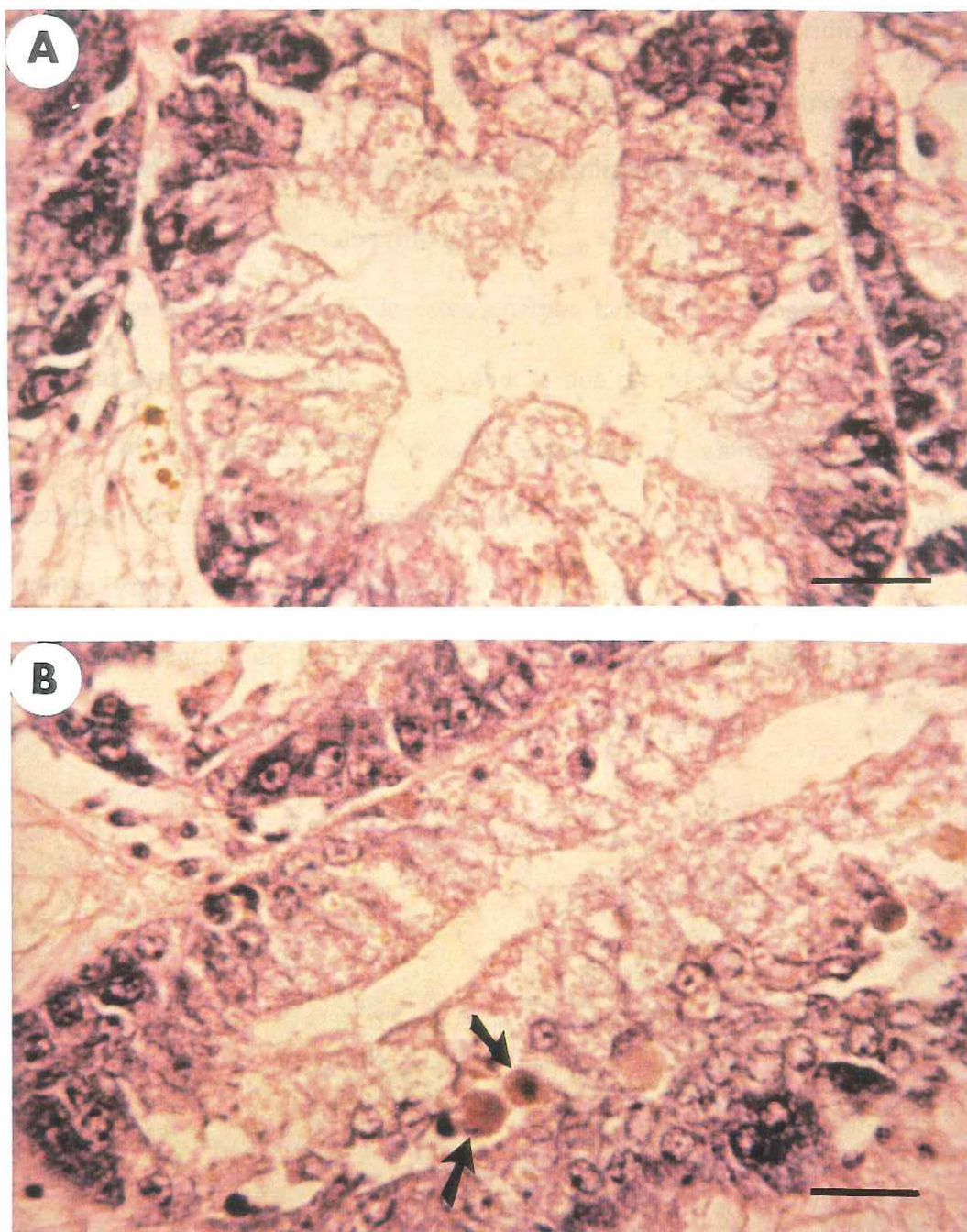


Figura 17. (A) Túbulo digestivo sano y (B) cuerpos de inclusión de apariencia dudosa en el interior de las células digestivas de los túbulos digestivos de *Crassostrea gigas* (flecha). Escala de la barra =20 μm .

III.2.2.1 Prevalencia de las formas parasitarias.

En Agromarinos, durante el periodo de muestreo se observó en los ostiones analizados la presencia constante de cuerpos de inclusión tipo haplosporidios (Fig. 18A). Se observó una mínima prevalencia del 20 % en enero de 1997 y una máxima de 100 % en septiembre de 1996. No existieron diferencias significativas de su prevalencia en los ostiones de los distintos niveles de profundidad ($F_{(2,33)} = 1.93$; $p = 0.1615$).

En Alfonsos, la presencia de estos cuerpos también fue constante durante el periodo de muestreo (Fig. 18B). Observándose una prevalencia mínima en junio de 1996 (10 %), el resto del periodo de muestreo se registraron valores entre 40 y 100 % . No existieron diferencias de su prevalencia entre los ostiones de los distintos niveles de profundidad (Prueba de Kruskal-Wallis; $H = 3.37$ $p=0.184$).

Las prevalencias de los cuerpos de inclusión entre localidades no fueron significativamente diferentes (Mann-Whitney; $T = 10039$, $p = 0.40$).

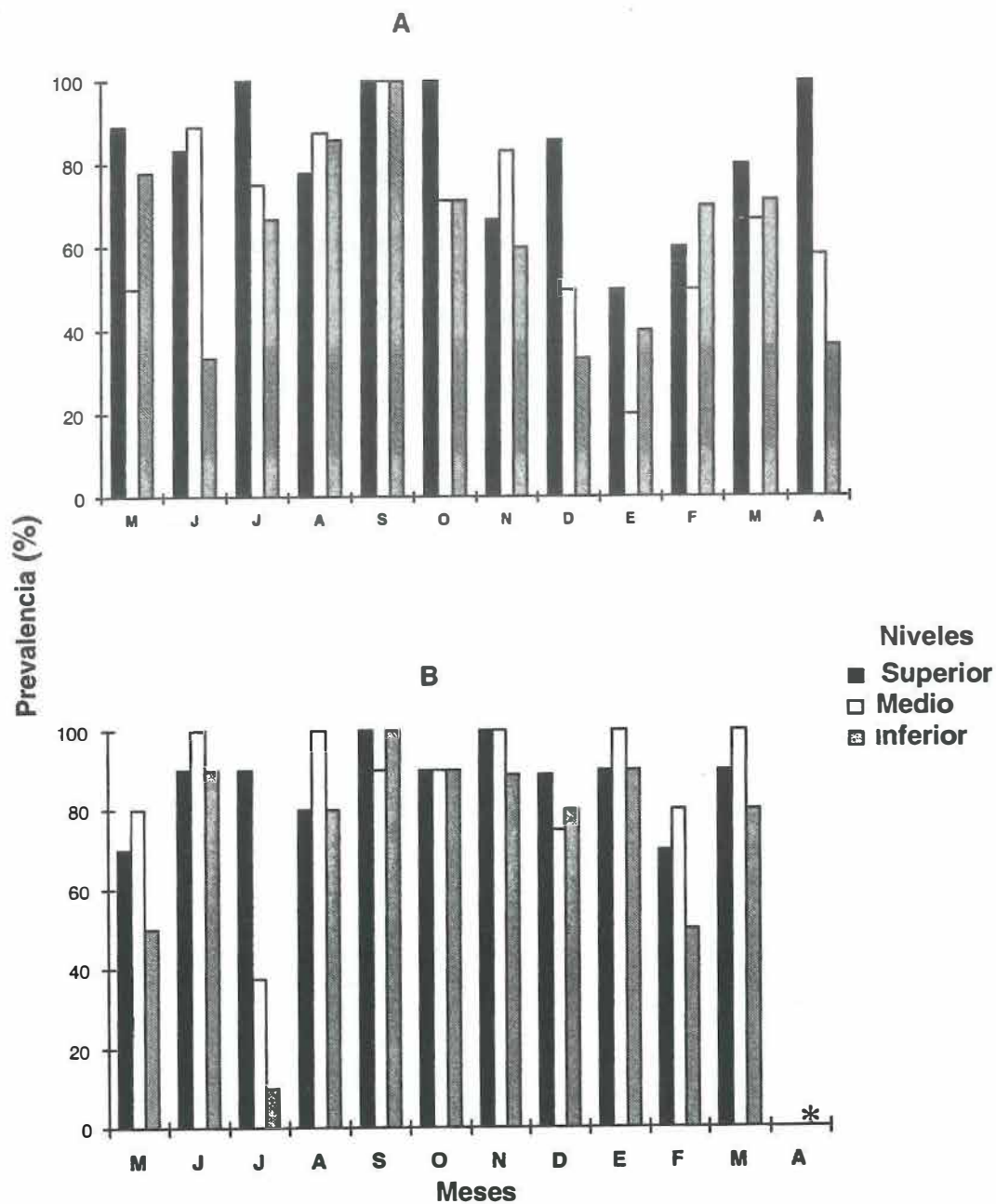


Figura 18. Prevalencia de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidiosis en los ostiones de Agromarinos (A) y Alfonsos (B).

III.2.2 .2 Grado de infestación

En la Figura 19 se muestra el número de cuerpos de inclusión por ostión encontrados durante el periodo de muestreo para Agromarinos y Alfonsos.

En los ostiones de Agromarinos se observó que el grado de infestación tiende a incrementar hacia los meses cálidos (julio a octubre de 1996), con un máximo de 30 cuerpos de inclusión por organismo y disminuyendo hacia los meses más fríos (noviembre de 1996 a febrero de 1997), con un mínimo de 3 (diciembre y enero de 1997) (Fig. 19A). El grado de infestación de los ostiones analizados en los distintos niveles de profundidad fue similar (Prueba Kruskal-Wallis, $H= 8.10$, $p = 0.52$).

En los ostiones de Alfonsos se observó que las variaciones en el grado de infestación no coincidió con la temperatura prevaleciente en las diferentes estaciones del año; presentándose los mayores valores de cuerpos de inclusión por organismo en mayo, octubre y diciembre de 1996, con valores entre 30 y 33 cuerpos de inclusión por organismo y los menores en junio de 1996, febrero y marzo de 1997, con un número mínimo de 3 y un máximo de 10 (Fig. 19B). No existieron diferencias significativas en el grado de infestación entre los ostiones de los distintos niveles de profundidad ($F_{(2,30)} = 0.1841$, $p = 0.8328$).

No existieron diferencias significativas en el grado de infestación de los ostiones entre localidades (Mann-Whitney; $T= 988.500$, $p = 0.135$).

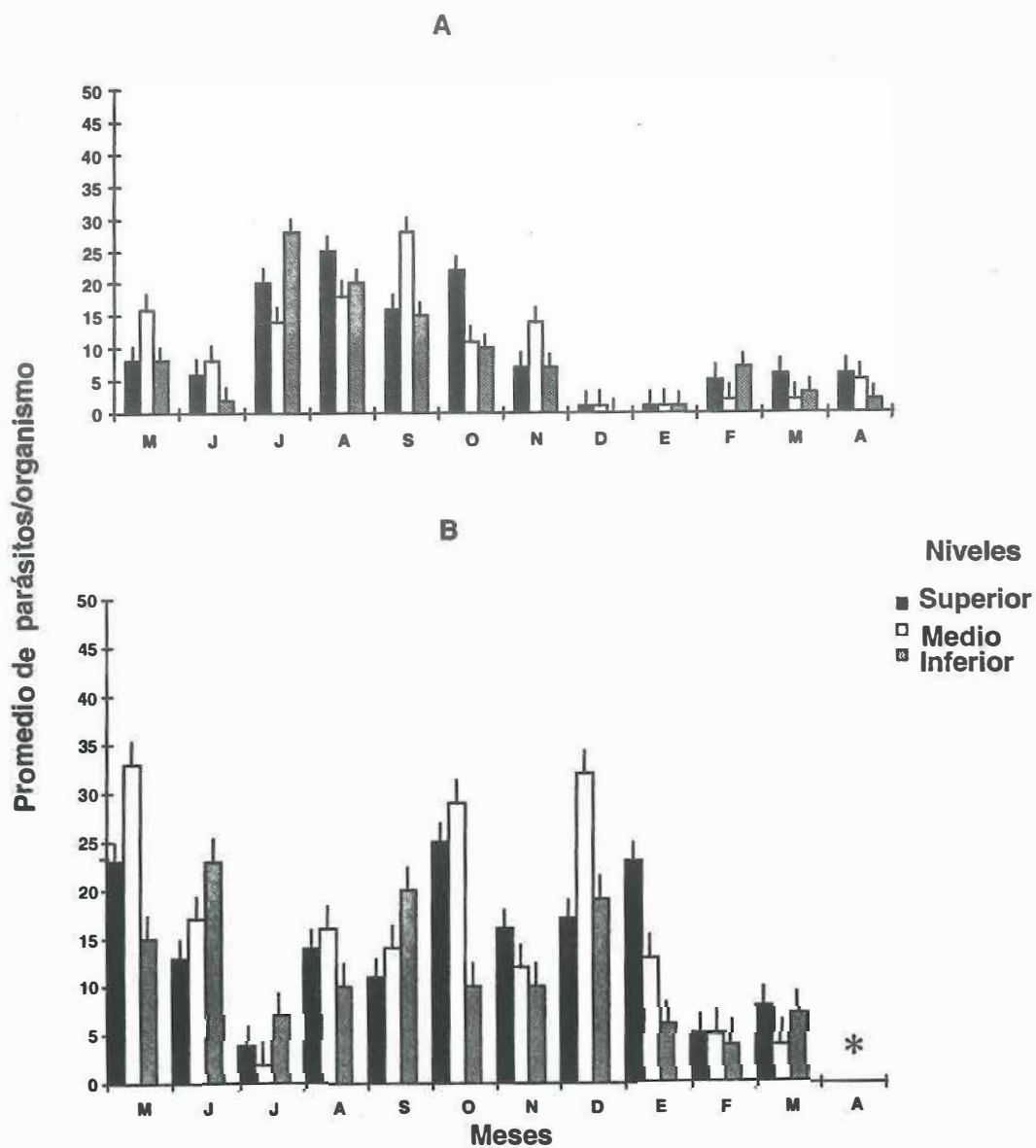


Figura 19. Promedio de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios observados por organismo en Agromarinos (A) y Alfonsos (B) durante el periodo de muestreo. La línea sobre las barras indica el error típico.

III.2.2.3 Frecuencia de observación de los cuerpos de inclusión en los órganos estudiados

En las siguientes tablas, Agromarinos tabla (III) y Alfonsos tabla (V), se muestra la frecuencia relativa de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios en los órganos estudiados: glándula digestiva, manto y branquias. En los ostiones de ambas localidades se observó con mayor frecuencia a los cuerpos de inclusión en la glándula digestiva (intestino, estómago y túbulos digestivos) y ocasionalmente se observaron estos cuerpos en el epitelio de las branquias o el manto.

En las tablas (IV y VI) se muestra el rango máximo de los cuerpos de inclusión encontrados en cada órgano estudiado. En Agromarinos, los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios fueron encontrados en el intestino y estómago en un rango máximo de 1 a 8 y en los túbulos digestivos de 1 a 4 cuerpos de inclusión por órgano. En Alfonsos, en intestino y estómago se encontró un rango máximo de 1 a 6 cuerpos de inclusión por órgano y en túbulos digestivos el máximo rango que se observó fue de 1 a 4.

Tabla III. Frecuencia relativa de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio en los órganos estudiados de *Crassostrea gigas*, en Agromarinos.

Mes	Manto	Branquia	Intestino y Estómago	Túbulos digestivos
1996				
mayo	0	0	7	5
junio	1	0	3	8
julio	0	1	5	5
agosto	0	0	6	1
septiembre	0	0	9	6
octubre	0	0	8	5
noviembre	0	1	1	4
diciembre	0	0	3	2
1997				
enero	0	0	1	4
febrero	0	0	2	2
marzo		0	1	2
abril	0	0	3	2

Tabla IV. Rango de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio por órgano infestado de *Crassostrea gigas*, en Agromarinos.

Mes	Manto	Branquia	Intestino y Estómago	Túbulos digestivos
1996				
mayo	0	0	1-2	1-2
junio	1	0	1-6	1
julio	0	1	1-3	1
agosto	0	0	1-8	1-3
septiembre	0	0	1-4	1-4
octubre	0	0	1-5	1-3
noviembre	0	0	1-3	1-2
diciembre	0	0	1	1-1
1997				
enero	0	0	1-4	1-1
febrero	0	1	1-5	1-3
marzo	0	0	1-3	1-2

Tabla V. Frecuencia relativa de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio en los órganos estudiados de *Crassostrea gigas*, en Alfonsos.

Mes	Manto	Branquia	Intestino y Estómago	Túbulos digestivos
1996				
mayo	1	1	8	3
junio	0	0	5	9
julio	0	1	2	1
agosto	0	0	5	6
septiembre	1	0	3	5
octubre	0	0	7	4
noviembre	0	0	5	7
diciembre	0	1	3	5
1997				
enero	0	0	4	4
febrero	0	0	1	2
marzo	0	0	2	3

Tabla VI. Rango de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio órgano infestado de *C. gigas*, de Alfonsos.

Mes	Manto	Branquia	Intestino y Estómago	Túbulos digestivos
1996				
mayo	1	1	1-6	1-2
junio	0	0	1-3	1-4
julio	0	1	1-2	0-1
agosto	0	0	1-3	1-3
septiembre	1	0	1-5	1-2
octubre	0	0	1-6	1-4
noviembre	0	0	1-6	1-2
diciembre	0	1	1-2	1-3
1997				
enero	0	0	1-5	1-4
febrero	0	0	1-4	1-2
marzo	0	0	1-2	1-2

III.2.2.4 Daños asociados a los cuerpos de inclusión de tipo haplosporidio

Para poder determinar los daños provocados en el hospedero por infecciones de tipo haplosporidios, es importante el determinar qué órganos están siendo infestados, así como las reacciones que presenta un hospedero a la invasión de un parásito.

En los ostiones analizados de ambas localidades se observó una invasión intracelular de formas parasitarias (Fig. 16) en las células huésped de la glándula digestiva del hospedero (divertículos digestivos, intestino y estómago). Esto implica que al estar dentro estos parásitos provocan una dilatación de la membrana de la célula huésped y con ello un aumento en el tamaño, obstruyendo así la mecánica de funciones de las célula del hospedero. Durante el período de estudio, en los ostiones analizados no se observaron núcleos hipertróficos o rupturas de membrana, así como tampoco reacciones hemocitarias por parte del hospedero, aún cuando en algunos casos el número de parásitos por órgano infestado fue más de uno (Tabla IV y VI).

III.2.2.5 Relación entre la presencia de los cuerpos de inclusión con el IC de los ostiones y la mortalidad

No se detectó relación entre los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios y el IC de los ostiones examinados en ambas localidades (Agromarinos $R^2 = 0.0006$; Alfonsos $R^2 = 0.0016$), así como tampoco se encontró alguna relación con la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo (Agromarinos $R^2 = 0.0012$.; Alfonsos $R^2 = 0.09$).

III.3 Mortalidad

Dado que este estudio se inició cuando los ostiones tenían una talla comercial con una talla promedio entre 11 y 12 cm y que las conchas de los organismos que mueren quedan fijas en la "sarta", es posible determinar que mortalidad ocurrió previa al inicio del estudio y cual a partir de él. En la figura 20 se muestra la frecuencia de tallas de los organismos muertos en ambas localidades. La mayor cantidad de organismos muertos pertenecieron a la clase de talla de entre 8 y 10 cm y 12 a 14 cm para el caso de Agromarinos (Fig. 20A). En Alfonsos, la mayor cantidad de organismos muertos pertenecieron a la clase de talla de entre 8 y 14 cm (Fig. 20B).

Entre localidades la mortalidad fue mayor en Agromarinos que en Alfonsos ($F_{(1,44)} = 24.32$, $p < 0.001$).

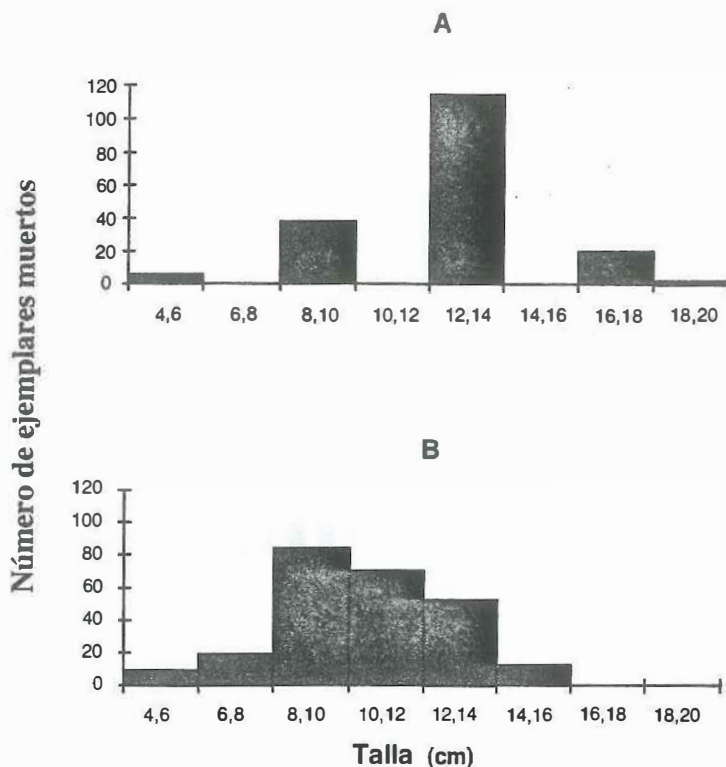


Figura 20. Frecuencia de talla de los ostiones muertos en Agromarinos (A) y en Alfonso (B) durante el periodo de muestreo.

III. 3. 1 Mortalidad mensual

La mortalidad mensual en Agromarinos fue mayor en los meses de junio de 1996 (80 %) y marzo de 1997 (70 %), y se observó una mortalidad mayor en el nivel medio e inferior de la "sarta" que en el superior (Fig. 21A). En Alfonso, la mayor mortalidad se registró en febrero de 1997 (40 %) y marzo de 1997 (65 %), en donde las mortalidades mayores fueron observadas en el nivel inferior (Fig. 21B).

Al final del estudio la mortalidad acumulada de *Crassostrea gigas* entre los distintos niveles de la sarta fue de entre 50 y 70 % en ambas localidades (Fig. 22).

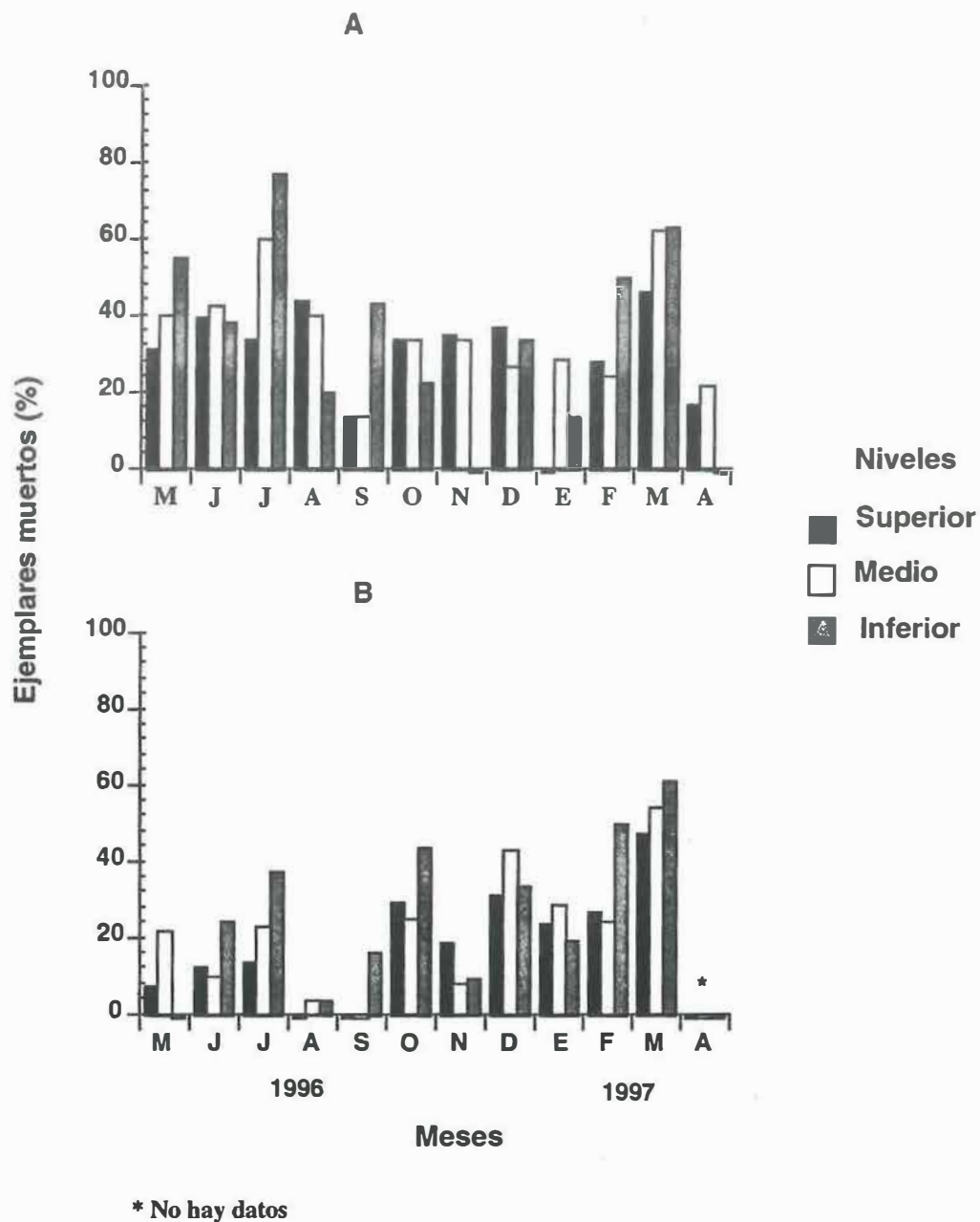


Figura 21. Mortalidad mensual de *Crassostrea gigas* en tres niveles de profundidad y en dos sitios de muestreo, Agromarinos (A) y Alfonsos (B).

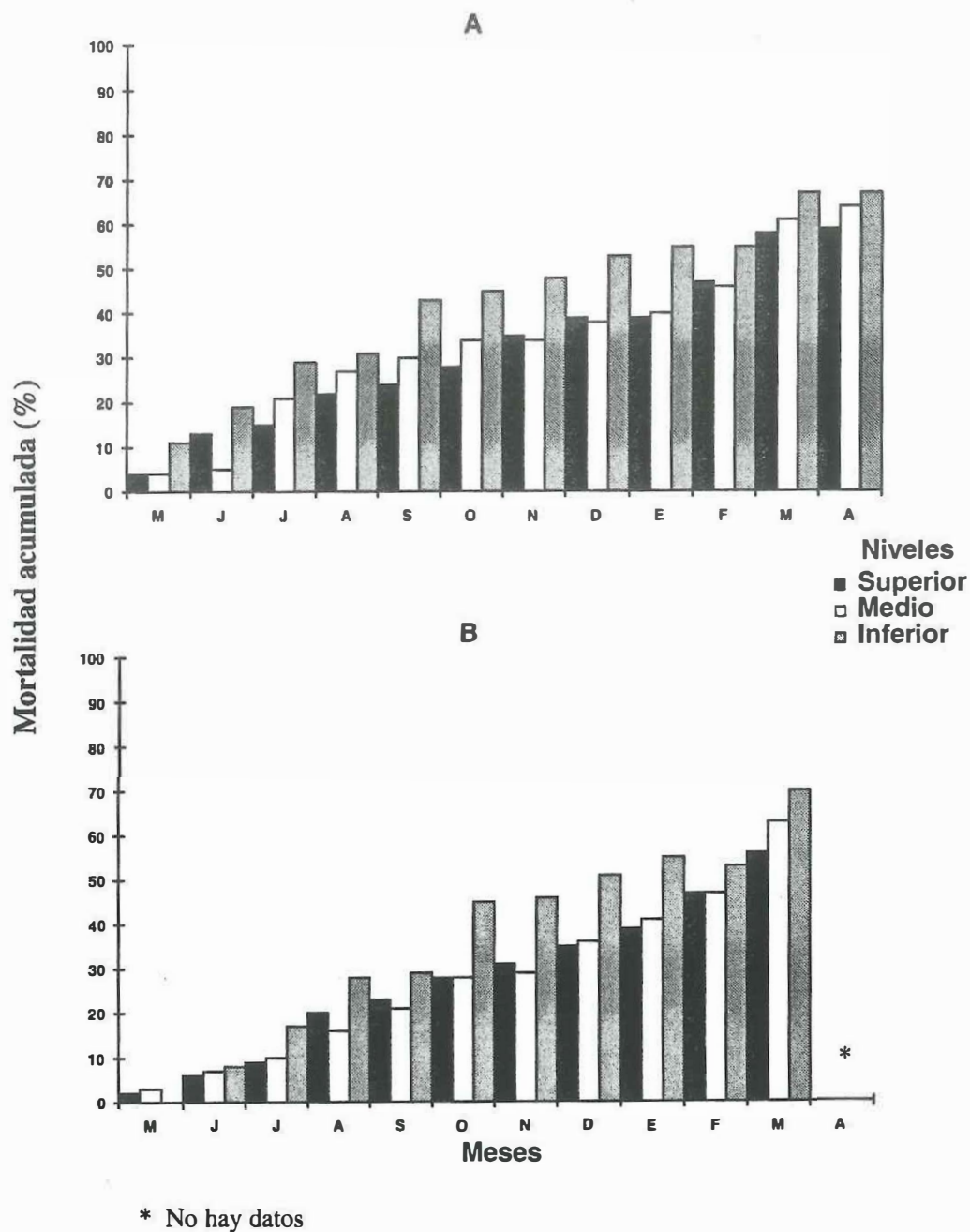


Figura 22. Mortalidad acumulada de *Crassostrea gigas* registrada durante el periodo de estudio, en Agromarinos (A) y Alfonsos (B).

III.4. Temperatura y salinidad.

Los datos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y salinidad (ppm) medidos puntualmente utilizando un termómetro de cubeta y un refractómetro, indican que las variaciones de temperatura y salinidad durante el periodo de muestreo, fueron similares entre localidades (Fig. 23). Sin embargo, los datos tomados con termógrafo (Fig. 24) en el área de estudio muestran que existen diferencias significativas de temperatura entre localidades de acuerdo al análisis de datos pareados, utilizando la prueba "t" ($t = 5.61$ $p < 0.0001$). El promedio de las diferencias de temperatura entre localidades fue de $0.13 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

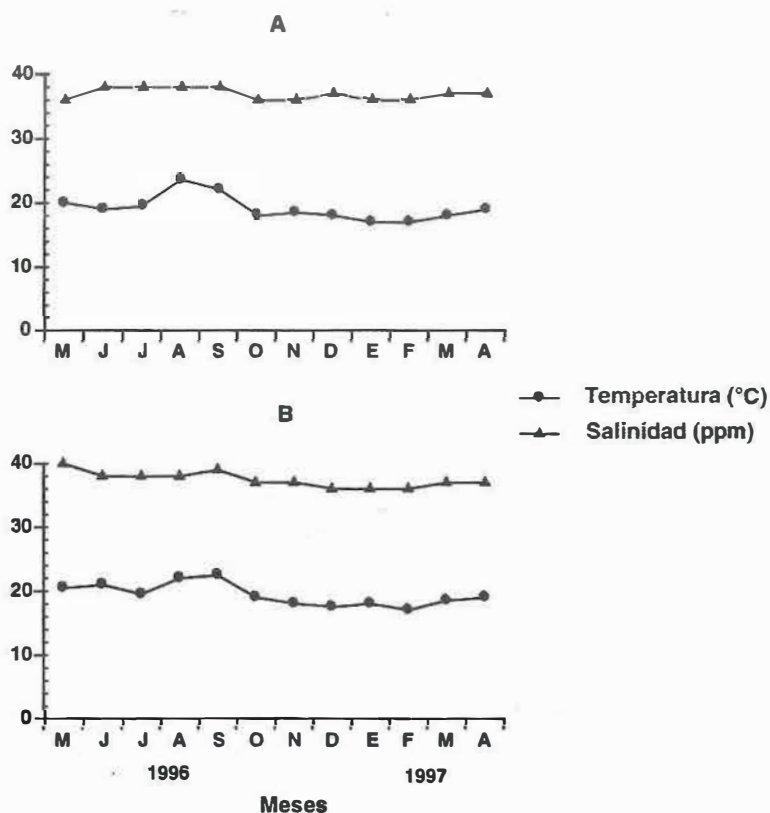


Figura 23. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y salinidad (ppm) registrada durante el periodo de muestreo Agromarinos (A) y Alfonsos (B).

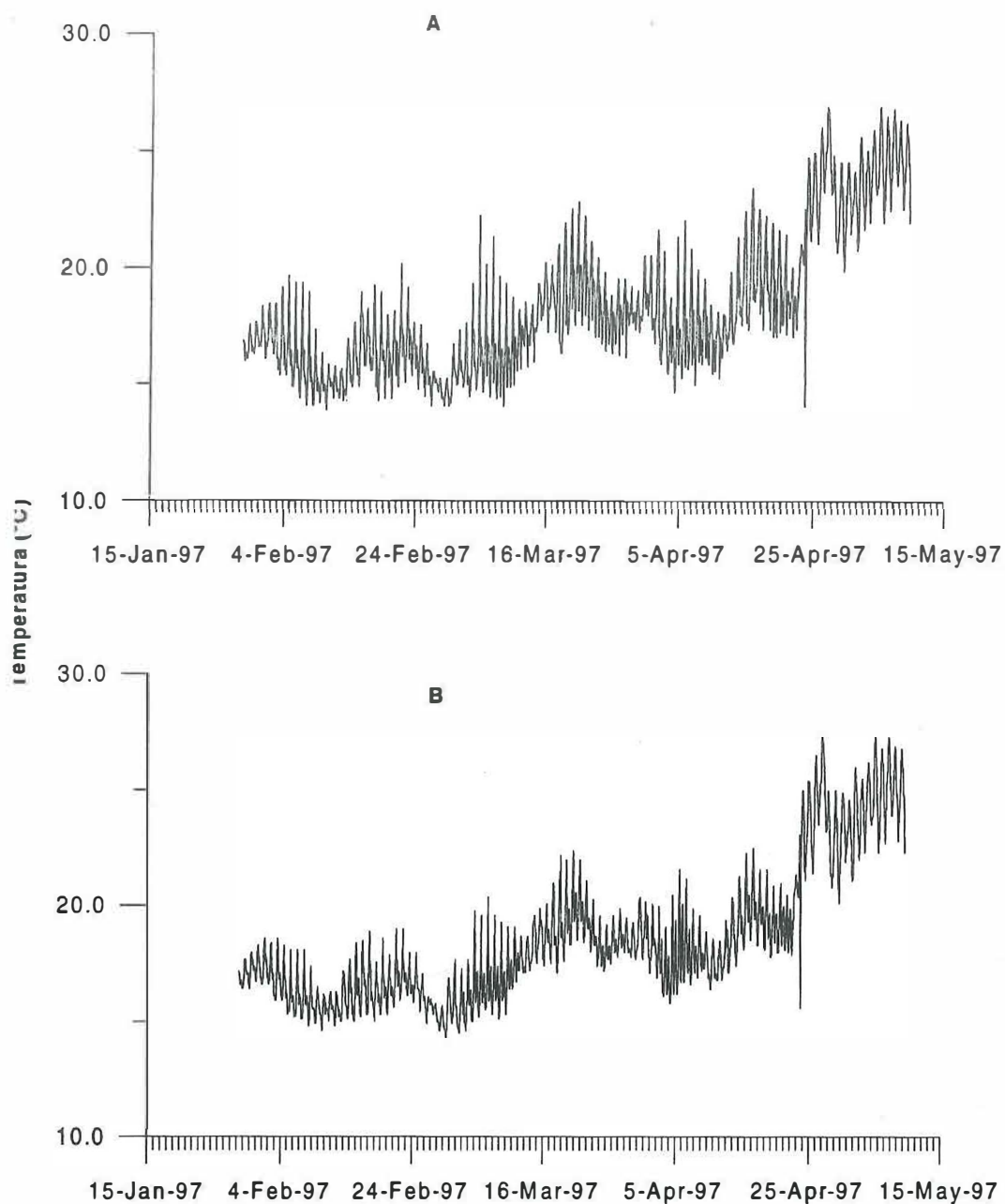


Figura 24. Registro de temperatura superficial (°C) durante el periodo de enero a mayo de 1997 en las localidades de muestreo Agromarinos (A) y Alfonso (B).

IV DISCUSIÓN

IV.1 *Polydora* sp.

Las especies *Polydora limicola* y *P. ciliata* han sido encontradas en el Noroeste del Pacífico por Radashevsky (1993), pero el autor reconoce la dificultad respecto a su identificación. De acuerdo con Blake (1996), *P. limicola* es virtualmente idéntico al bien conocido y ampliamente distribuido perforador de conchas *P. ciliata*. Macchenko y Radashevsky (1993) evaluaron las diferencias genéticas entre *P. limicola* y *P. ciliata* en el mar de Japón. Encontrando que aún cuando morfológicamente no hay diferencias, existen claras diferencias genéticas en 10 de los 27 locis estudiados. Estas diferencias genéticas apoyan la separación de *P. ciliata* y *P. limicola*, considerando estrictamente su hábitat (Blake, 1996). En este sentido la especie que se encontró en este estudio podrían ser *P. ciliata*, de cualquier forma, se necesitan estudios genéticos para aclarar su identidad.

Alrededor del mundo las especies de moluscos económicamente importantes pueden ser infestados por poliquetos espionidos. El impacto de estos gusanos en los moluscos es variable, pero los principales daños por infestación de espionidos resultan de la acción de especies de los géneros *Polydora* y *Brocardia*. Los ostiones son afectados cuando la larva planctónica se fija sobre la superficie de la concha creciendo en los márgenes de la misma. Después, el gusano construye un canal en forma de "U" con dos aberturas hacia el exterior de la concha, el cual es llenado de lodo, detritus, o pequeños pedazos de concha, esto estimula al hospedero a secretar capas de conquiolina y calcita para cubrir las perforaciones causadas por el gusano como resultado se forman

ampollas (Handley y Bergquist, 1997; Zottoli y Crarriker, 1974). Algunas ampollas son más anchas que otras. Teóricamente, un hospedero tendría que utilizar más energía en cubrir una ampolla grande, que la que utilizaría para una ampolla pequeña. En consecuencia, la determinación del área de las ampollas y su relación con el IC del hospedero podría ser un método más adecuado para medir el efecto del gusano en el hospedero que contando el número de ampollas. De acuerdo con Lauckner (1983) la presencia de ampollas en la cara interna de las valvas de ostión reduce significativamente el volumen de la cavidad de la concha que ocupa el cuerpo blando, y posiblemente dichas ampollas interfieran en la fisiología general del ostión. En el presente estudio, al evaluar el efecto de los gusanos en los ostiones, la relación entre el área de la ampolla y el IC del hospedero fue similar a la relación entre el número de ampollas y el IC del hospedero. En ostiones con baja infestación, la utilización de metodologías más finas (p. e. razón de filtración) serían de mayor utilidad para obtener evidencias del efecto de los gusanos perforadores. Sin embargo, en este estudio se utilizó una metodología no tan fina, pero adecuada para los objetivos del presente trabajo. De tal forma que la relación entre el área de la ampolla y el IC del hospedero podría ser un mejor indicador en el caso de evaluar infestaciones severas en bivalvos.

La variabilidad en el IC entre localidades puede ser relacionada con la estacionalidad (disponibilidad de alimento) y/o estadio reproductivo. Los ostiones de Agromarinos presentaron mayores índices de condición que los de Alfonsos, esto podría ser relacionado con la disponibilidad de alimento. Lara-Lara y Álvarez-Borrego (1975),

Millán-Núñez *et al.*, (1982) y González (1997) encontraron que la clorofila *a* fue más abundante en el exterior que en el interior de Bahía Falsa. En ambas localidades los ostiones del nivel superior tuvieron mejores IC que los ostiones del nivel medio e inferior. Esto sugiere que la posición de los ostiones cerca del fondo puede ser inapropiado.

Si la infestación de los organismos tipo *Polydora* sp. depende de la oportunidad de encuentro entre el gusano y el hospedero (Gee y Davey, 1986; Robledo *et al.*, 1994), el gradiente de infestación observado, en donde los ostiones son mayormente infestados en el nivel inferior de la "sarta" que en el superior, podría deberse al tiempo de exposición del hospedero al gusano cuando los ostiones del nivel inferior permanecen sumergidos permanentemente. La exposición al aire puede ser importante en la sobrevivencia del gusano perforador. Ramírez-Filippini *et al.* (1987) cultivaron *Crassostrea gigas* utilizando bolsas de plástico colocadas en la zona intermareal y observaron que el número de ampollas fue menor en los ostiones de la zona intermareal, que cuando los cultivos se mantienen sumergidos permanentemente. De hecho, se ha encontrado en los campos ostrícolas que una forma de control natural de epibiontes es que los ostiones queden expuestos al aire cuando baja la marea, esto ha sido corroborado en estudios de *Crassostrea gigas* cultivados en zonas intermareales (Cáceres-Martínez y García-Bustamante, 1987). En el presente trabajo se encontraron estas condiciones en los cultivos de Alfonsos las "sartas" quedan enteramente expuestas al aire durante marea baja, mientras que en Agromarinos los niveles inferiores de la sarta permanecen siempre

sumergidos. Estas diferencias en exposición al aire puede explicar las diferencias observadas en la prevalencia de *Polydora* sp.

No se detectó relación alguna entre la presencia de *Polydora* sp. y la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo. Ocasionalmente se encontraron ampollas en el interior de las valvas de los organismos muertos, estas ampollas estaban cubiertas con una gruesa capa de concha y sin el gusano perforador que las forma, lo que indica que la ampolla fue formada mucho tiempo antes de que el ostión muriera.

IV.2 Ácaros

Los ácaros son parásitos que invaden los órganos internos del hombre y los animales tanto vertebrados como invertebrados. La superfamilia Hydrachnellae y la Superfamilia Halacaroidea contiene aproximadamente 700 especies de ácaros acuáticos de vida libre y parásitos (Pugh y Bartsch, 1993; Bartsch, 1988). Aunque son pocos los ácaros acuáticos que se conocen como parásitos, algunos se han convertido en parásitos internos mediante una invasión de las vías respiratorias de los huéspedes (p. ej. en branquias de crustáceos y mejillones de agua dulce), o bien pueden parasitar en sus etapas larvales como ciertas larvas de ácaros de agua dulce que son parásitos de insectos acuáticos y de almejas (Baker y Wharton, 1952). Newell (1947) realizó una clasificación de ácaros agrupándolos en 10 subfamilias de las cuales dos de ellas comprenden principalmente ácaros marinos Pontarachnidae Thor, 1929 y *Halacarinae* Viets, 1927 (que comprende 14 géneros marinos y 5 de agua dulce) y el autor considera a los *Enterohalacarinae* Viets, 1938 como parásitos del intestino de equinodermos, al menos

en estadio larval y ninfal; *Halixodinae* Viets, 1927 parasita como ninfa las branquias de *Amphineura* y *Ascacopsiphagina* Viets, 1933 las branquias de decápodos crustáceos de agua dulce. Otros parásitos halacáridos del género *Halioxodes* viven en las branquias de los quitones y en la cavidad del manto de gasterópodos (Baker y Wharton, 1952; Bartsch, 1988).

Hasta ahora, no se había reportado la presencia de ácaros asociados a moluscos bivalvos marinos como *Crassostrea gigas*, por lo cual éste es el primer reporte de ácaros asociados a bivalvos marinos. Sin embargo, su presencia en la cavidad paleal de *Crassostrea gigas*, la ausencia de daños en branquias y manto asociados a estos ácaros y la falta de evidencia de ellos en los órganos internos sugieren que su presencia dentro del ostión pueda ser simplemente circunstancial. Se requieren estudios específicos para determinar la naturaleza de esta asociación. Barnes (1986) menciona que los ácaros marinos viven casi siempre en aguas someras, no nadan, sino que se desplazan con la ayuda de sus apéndices en el medio en que viven, sobre algas, briozoarios, hidroides y esponjas. Pugh y Bartsch (1993) reportan estudios realizados en las costas del Atlántico Norte donde se muestra que los Halacáridos son importantes miembros de la comunidad litoral particularmente en algas y en el sedimento, y Bartsch (1988) menciona que si colectáramos muestras de sustrato (sedimento, algas o colonias de animales) en zonas intermareales, el sustrato puede contener cientos de halacáridos y que estos se han adaptado para vivir en gran cantidad de animales o colonias de animales. La presencia constante de estos organismos fue predominantemente en los ostiones colocados en el

nivel medio de la sarta. Una de las razones de porqué estos organismos se encontraron más frecuentemente en este nivel, puede ser el hecho de que en Alfonsos la mayor mortalidad se presenta en aquellos ostiones colocados cerca del fondo, esto implica que disminuye el número de ostiones disponibles que pudieran ser utilizados por los ácaros como hábitat si lo comparamos con el resto de los niveles de la sarta.

IV.3 Larva de insecto

Los insectos son componentes significativos de la meiofauna de agua dulce, aunque generalmente no son tan buenos representantes en el número de la meiofauna marina. Sin embargo, un importante representante de los insectos marinos son las larvas de moscas de agua (Diptera: Chironomidae) que son habitantes comunes en pozas marinas. Existen registros de la familia Ephydriidae que han sido encontrados en sedimento de agua dulce, marino y en planicies de inundación, así como larvas de Ceratopogónidos (Fam. Ceratopogonidae) que generalmente ocurren en las zonas intermareales y del supralitoral de playas protegidas, mangles, pastos marinos y marismas (Huryñ y Perlmutter, 1988).

Wilson y Clark (1912) reportaron la presencia de una larva de mosca de agua en la cavidad del manto de un mejillón y no supieron si su intrusión fue accidental. La presencia de las larvas de insectos en la cavidad paleal de *Crassostrea gigas*, la ausencia de daños en branquias y manto asociados a estas larvas de insecto y la falta de evidencia de ellos en los órganos internos, hace suponer que al igual que en el caso de los ácaros, pudiese haber una relación meramente circunstancial.

Las características morfológicas externas de las larvas y su relación con especies de algas y depredadores en la zona, así como su estacionalidad indican que la especie encontrada es *Tethymia aptena* Wirth, 1949 perteneciente al orden Diptera y a la familia Chironomidae. Esta familia parece la más adaptada a las áreas costeras marinas. Algunas de las especies de esta familia pueden no tener alas y ser pequeñas (1 mm) o poseer alas y alcanzar tallas de hasta 7 mm. Las larvas de la mayoría de las especies de este grupo han sido encontradas alimentándose en mantos de algas de especies como *Ulva* sp. y *Enteromorpha* sp. (Smith y Carlton, 1975). Usinger (1970) menciona que especies de larvas marinas de las familias Chironomidae y Cunionidae viven en algas marinas (*Ulva*, *Enteromorpha* y otros). Las larvas que nosotros observamos tenían una talla promedio de 2.32 mm y no presentaron alas (Fig. 20), se encontró constantemente en las artes de cultivo la presencia de *Ulva lactuca*, especie común en la zona estudiada. Esto refuerza el hecho de que la especie encontrada pertenece a la familia Chironomidae. Por otro lado, el escarabajo *Thalassostrechus barbarae* Horn, 1892 habita en las zonas intermareales del Norte de California hasta Baja California, México, cuando las condiciones de marea lo permiten, los adultos emergen de las hendiduras del terreno al anochecer y se dirigen hacia la zona intermareal en donde caminan por las superficies de rocas y algas, alimentándose del zooplancton y de las larvas de dípteros alimentadores de algas como *Tethymia aptena* o de pequeños gusanos (oligoquetos) (Morris *et al.*, 1980). Por otro lado, los meses en que se observó la mayor prevalencia de las larvas de insecto (septiembre de 1996 a febrero de 1997) coincide con lo reportado por Morris *et al.*,

(1980), quienes mencionan que *Thethymia aptena*, presenta su mayor abundancia durante el invierno y raramente se encuentra en verano.

IV.4 Nemátodos

Entre los helmintos parásitos de moluscos se incluyen los tremátodos, céstodos y nemátodos, estos grupos se han descrito en literatura ampliamente, en especial las larvas de tremátodos por ser claramente las más destructivas para los moluscos debido al severo efecto que han causado y con ello el debilitamiento de sus hospederos, pobre crecimiento y condición.

En el caso particular de los nemátodos existen muy pocos parásitos de moluscos marinos, uno de ellos es el gnathostomido *Echinocephalus* que parasita ostiones, escalopas y abulones. *Echinocephalus* spp. se han encontrado en diversos moluscos marinos. *E. uncinatus*, se ha localizado en el músculo abductor de la ostra perlera *Margaritifera vulgaris* y otros bivalvos; *E. sinensis* se observó en la masa visceral del ostión japonés *Crassostrea gigas* de la bahía de Hong Kong, encontrándose un incremento en la intensidad de parasitación con el avance de la edad del hospedero. El interés por este género se deriva por la posibilidad de que algunas especies hayan afectado la salud humana como invasores del tracto digestivo humano (Sidermann, 1990).

La presencia de los nemátodos en la cavidad paleal de *Crassostrea gigas* y la falta de evidencia de ellos en los órganos internos sugieren que su presencia dentro del ostión es simplemente circunstancial. Por otro lado, estos organismos no presentaron las

características de verdaderos nemátodos parásitos de moluscos como *Echinocephalus* sp. Smith y Carlton (1975) consideran que es natural que los nemátodos ocurran comúnmente en esponjas de zonas intermareales, en briozoarios y en bancos de mejillones así como en detritus. Inclán-Rivadeneira y Acosta-Ruiz (1989) determinaron la presencia de esponjas sobre los ostiones cultivados en Bahía Falsa, identificando a la esponja *Halichondria* sp; la ascidia *Botrylloides* sp. y el hidroide *Tubularia crocea*. En este estudio se observó durante el periodo de muestreo la presencia constante de algas y esponjas indistintamente del nivel donde se cultivaban los ostiones en la "sarta".

Por otro lado, Warwick (1975) menciona que la mayoría de las especies de nemátodos que habitan en suelos marinos son de vida libre y que estos ocurren en una gran cantidad de algas expuestas en marea baja, especialmente en aquellas de abundantes frondas ya que tienen la capacidad de retener agua cuando quedan expuestas y que los nemátodos habitan en sitios donde encuentren protección a la acción de la marea. La presencia constante de los nemátodos puede ser por oportunismo, ya que periódicamente las artes de cultivo quedan expuestas al aire cuando baja la marea, además de que existen abundantes praderas de pastos marinos cercanos a las artes de cultivo.

IV. 5 Bacterias

De manera general, se podría decir que las enfermedades bacterianas en moluscos son únicamente importantes en los estadios tempranos del ciclo de vida de estos

organismos, son poco importantes en poblaciones de animales adultos, con muy pocas excepciones (Sindermann, 1990). En ostiones adultos, experimentalmente se ha encontrado que existe una mayor tolerancia a la exposición de poblaciones bacterianas. La vibriosis, algunas veces llamada necrosis vacilar, es indudablemente una enfermedad importante en ambientes de cultivo de larvas de bivalvos (Sindermann, 1990).

El ostión japonés *Crassostrea gigas* es intensamente cultivado a lo largo de la costas oeste de Norte América, en Japón y Korea (Perdue *et al.*, 1981). En estos lugares, de mediados a finales de verano han ocurrido periódicamente grandes mortalidades de *C. gigas*, donde el primer registro data de 1945 en Japón y 1956 en Norte América.

Se ha observado que los ostiones reproductivamente maduros son más susceptibles a ser afectados por bacterias gram positivas y gram negativas, a este fenómeno se le ha llamado "mortalidad de verano" o "nocardiosis del ostión japonés". Sin embargo, las causas de este fenómeno aún se desconocen (Friedman *et al.*, 1991a).

Para *Crassostrea gigas*, el papel de las bacterias como organismos causantes de enfermedades queda englobado con el fenómeno de la "mortalidad de verano", evidenciando la asociación entre bacterias y la mortalidad de la especie en la época de verano. La mortalidad de verano, comienza durante el verano cuando los ostiones exhiben un marcado desarrollo gonadal y la temperatura del agua y los nutrientes son altos. Estas condiciones ambientales no son favorables para los ostiones, aumentando su susceptibilidad a adversos fenómenos como infecciones bacterianas (Friedman *et al.*, 1991a). En este estudio, se encontró que la presencia de bacterias coincide con la

época de verano y también respecto a la mortalidad, misma que fue mayor en los meses de primavera-verano. Por otro lado, los ostiones en los que se observó la presencia de bacterias, eran organismos sexualmente maduros y las condiciones ambientales prevalentes en Bahía Falsa, coinciden con lo reportado por Friedman *et al.* (1991a). Sin embargo, fueron muy pocos los ostiones en los que se observó la presencia de bacterias, además de que no se encontraron evidencias de la patogenicidad de las bacterias para los ostiones de Bahía Falsa. De tal forma que, únicamente en un caso, se observó una gran cantidad de bacterias y el tejido conectivo del organismo en general estaba necrosado. Consultando los datos de campo, este organismo estaba en descomposición, esto indica que era un ostión que había muerto antes de la revisión en laboratorio, posiblemente en el trayecto de campo a laboratorio, por lo que la presencia de bacterias en un organismo en estas condiciones es natural. Para el resto de los casos, la presencia de estos microorganismos posiblemente se deba al hecho de que las bacterias son poblaciones oportunistas que pueden desarrollarse rápidamente en el ecosistema del hospedero, o en el mismo hospedero bajo condiciones específicas (Sinderman, 1990) y por esta razón fueron observadas en forma puntual. Existen relaciones bacteria-hospedero, no patógenas, en donde se ha observado que la presencia de especies como *Vibrio* o *Pseudomonas* es normal y frecuentemente son los constituyentes dominantes de la flora bacterial natural del tracto digestivo de almejas (Kinne, 1983).

IV. 6 Cuerpos de inclusión tipo Haplosporidios (Protozoa)

Los miembros del orden Haplosporida se han reconocido como parásitos de bivalvos marinos y han sido de interés particular por contener especies patógenas altamente destructivas de ostiones (Kinne, 1983). Los parásitos haplosporidios y tipo haplosporidios han infectado a una gran variedad de bivalvos en todo el mundo, incluyendo al ostión Americano, *Crassostrea virginica*, al ostión olympia, *Ostrea lurida*, a la ostra plana, *Ostrea edulis*, al mejillón *Mytilus californianus* y al ostión japonés, *Crassostrea gigas* (Fiedman *et al.*, 1991b).

El conocimiento del ciclo de vida de estas especies ha sido derivado de la observación de hospederos con distintos niveles de infestación, hospederos ligeramente infestados e individuos severamente infestados. Así mismo, se han realizado descripciones de la secuencia del desarrollo de los Haplosporidios a partir de secciones celulares fijadas. Estas conjeturas han sido de primordial importancia para la descripción de los ciclos de vida (Perkins, 1979). Los organismos de este orden se han caracterizado por la simplicidad de su ciclo de vida y la producción de esporas simples (Sprague, 1979) teniendo como característica importante, la presencia de haplosporosomas en forma de plasmodios y esporas y la delimitación del esporoplasma por divisiones internas para la formación de las esporas (Perkins, 1979).

El ciclo de vida de un típico haplosporidio parásito en fase inicial es una amébula que se multiplica por fisión, siguiéndole a su vez la división del cuerpo para formar dos amébulas, que pueden continuar duplicándose por muchas generaciones. De una amébula surge fundamentalmente un plasmodio, de tal forma que las amébulas crecen a

tamaños relativamente grandes, pueden ser de forma esférica y sus núcleos se multiplican en número, formando de este modo los plasmodios. Estos plasmodios se dividen en cuerpos más pequeños uninucleados, cada uno de los cuales se transforma en una espora. Estos parásitos se han localizado en anélidos y moluscos acuáticos (Caullery y Mesnil, 1982).

Especies como *Haplosporidium nelsoni* y *Haplosporidium costale* son de considerable importancia para la industria ostrícola, debido a su asociación con elevadas mortalidades de *Crassostrea virginica* en las costas de los Estados Unidos. Sin embargo, se han encontrado otras especies de Haplosporidios en bivalvos marinos los cuales no han sido asociados con mortalidades (Friedman *et al.*, 1991b). En el caso particular de *Crassostrea gigas*, desde los años sesentas se ha determinado la presencia de infecciones haplosporidias con patogenicidad desconocida en EUA (Friedman, 1996). Estadios de plasmodio y/o esporangio de haplosporidios semejantes a *Haplosporidium nelsoni* fueron observados en *C. gigas*, en el estado de Washington (Pereyra, 1964), en Taiwan (Rossenfield *et al.*, 1966), Korea (Kern, 1976) y Japón (Friedman *et al.*, 1991b) y en Francia, se observó la presencia de plasmodios con características semejantes a *Haplosporidium costale* (Comps y Pichot, 1991).

Este puede ser el caso de los cuerpos de inclusión tipo haplosporidios encontrados en este trabajo, debido a que aún cuando la presencia de los parásitos en los ostiones analizados en ambas localidades fue constante, no se observaron lesiones en los órganos infestados, así como tampoco se detectó relación entre los parásitos tipo haplosporidios y

el IC del los ostiones examinados o entre los parásitos y la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo.

Este estudio confirma lo que en investigaciones realizadas en otras partes del mundo se ha demostrado; la tolerancia de *Crassostrea gigas* a infecciones haplosporidias (Friedman, *et al.*, 1991b; Littlewood *et al.*, 1992)

La presencia de los cuerpos de inclusión tipo haplospororidios en los ostiones de Bahía Falsa puede deberse al hecho de que, a principios de los setentas, se introdujo por vez primera con fines de cultivo semilla de *Crassostrea gigas* a Bahía Falsa comprada en Washington, EUA (Chávez-Nishikawa y Acosta-Ruíz, 1986). En este lugar se han detectado infecciones por haplosporidios en *C. gigas* desde los años sesentas y actualmente se consideran éstas de patogenicidad desconocida, y el patógeno es semejante a *Haplosporidium nelsoni* (Pereyra, 1964).

Es importante considerar que la transplantación de *C. gigas* a aguas de Baja Californiana ha sido exitosa debido a la tolerancia de la especie a las condiciones ambientales prevalentes en la bahía. El hecho de observarse la presencia de los parásitos tipo haplosporidios constante e indistinta con respecto a la profundidad de los ostiones de ambas localidades, indica que deben existir también condiciones de sustentabilidad para el parásito, de tal forma que se de una relación equilibrada entre el parásito y el hospedero. Las condiciones ambientales prevalentes (p. ej. salinidad, temperatura, tiempo de exposición al aire, nutrientes) durante el periodo de muestreo no afectaron la prevalencia del parásito haplosporidios así como tampoco en el grado de infestación en

el hospedero. Ford y Haskin (1988) hicieron una comparación *in vitro* de la tolerancia del parásito protozoo *Haplosporidium nelsoni* y determinaron una reducción en la incidencia del patógeno en salinidades bajas debido a la inhabilidad fisiológica del microorganismo para tolerar estas salinidades. Por otro lado, Perkins (1979) ha encontrado que las condiciones de *Haplosporidium costale* son más estables en la boca de una bahía donde existe mayor proximidad al océano, ya que según el autor la presencia de estos patógenos y el grado de patogenicidad parece estar más estrechamente relacionado con la salinidad. En nuestro caso, Agromarinos se ubica cerca de la boca de la bahía, mientras que los cultivos de Alfonsos se ubican hacia la parte interna, sin embargo no existieron diferencias en la incidencia del parásitos haplosporidios entre los ostiones de ambas localidades, posiblemente porque la salinidad entre las localidades es similar. De acuerdo con Villarreal-Chávez (1993) en Bahía Falsa no existen aportes de agua dulce en ninguna época del año, esto explica, hasta cierto punto, el hecho de que las variaciones en la salinidad prevalentes durante el periodo de muestreo hayan sido similares entre las localidades.

Perkins (1979) menciona que la temperatura puede jugar un papel importante en la distribución geográfica de los patógenos haplosporidios y sus efectos han sido más evidentes en la mortalidad e incidencia de ostiones infestados por *Haplosporidium costale* y *H. nelsoni*, encontrándose que existió un incremento en la mortalidad del hospedero con las temperaturas de verano y que aún cuando los picos de mortalidad disminuyen durante el invierno los patógenos no desaparecen. En el presente trabajo se

observó que las fluctuaciones en el número de parásitos por organismo, en ocasiones coincidieron con las fluctuaciones de temperatura, aún cuando los patógenos no desaparecieron durante el periodo de muestreo. Por ejemplo, se observó que en Agromarinos el grado de infestación incrementó hacia los meses de verano y disminuyó hacia invierno, sin embargo, esta condición no se observó en los ostiones de Alfonsos, donde las fluctuaciones fueron indistintas de la temperatura de verano o invierno. Tampoco se observó un incremento en la mortalidad de los ostiones con las temperaturas de verano y viceversa, de hecho no se detectó ninguna relación con la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo y los cuerpos de inclusión tipo haplosporidio. Lo anterior sugiere que la mortalidad registrada se debió a otras razones, como estrés fisiológico del ostión. Friedman *et al.*, (1991a) concluyeron que las mortalidades de *Crassostrea gigas* registradas anualmente en Japón desde 1945 fueron atribuidas a estrés fisiológico resultado del incremento de las temperaturas o disminución de los niveles de nutrientes, aún cuando se observó la presencia de haplosporidios.

Con los resultados obtenidos, se pudo aseverar que no hay evidencias de la patogenicidad del parásito tipo haplosporidio en *Crassostrea gigas*, posiblemente por que existe un equilibrio en la relación parásito-hospedero que no ha desencadenado el desarrollo de una enfermedad, esto se supone además del hecho de que durante el periodo de muestreo observamos en los ostiones analizados únicamente la presencia intracelular de cuerpos de inclusión tipo haplosporidios (en algunos casos fases tempranas de esporas), sin una presencia masiva en glándula digestiva. Tampoco se

observó rompimiento de las membranas de los órganos infestados, así como tampoco reacciones hemocitarias en aquellas áreas que estaban siendo parasitadas.

Para el caso de las inclusiones de características externas dudosas que sugieren la presencia de rickettsias, cabe señalar que si ese fué el caso, se ha encontrado que procariontes tipo rickettsias son simbiosis comunes en moluscos bivalvos como la almeja de cuello corto, *Protothaca staminea*; la escalopa bebe, *Argopecten irradians*; la ostra plana, *Ostrea lurida*; los mejillones *Mytilus edulis* y *M. californianus* y en el ostión japonés *Crassostrea gigas* (Kinne, 1983; Friedman *et al.*, 1991a)

IV. 7 Mortalidad

Como se mencionó anteriormente, dado que el estudio inició cuando los ostiones tenían una talla comercial y las conchas de los organismos que mueren quedan fijas en la "sarta", es posible determinar qué mortalidad ocurrió previa al inicio del estudio y cual a partir de él. Como vemos la mayor frecuencia en la talla de los organismos muertos, en ambas localidades fue entre las clases de talla de 8 a 14 cm, esto indicó que la mortalidad ocurrió mayormente cuando los ostiones alcanzaron la talla comercial.

Como ya mencioné antes, Friedman *et al.*, (1991a) apunta que *Crassostrea gigas* ha registrado mortalidades anuales en Japón desde 1945 durante la época de verano y que aún cuando las causas no son del todo conocidas, los autores consideran que la mortalidad puede ser atribuida a la aceleración reproductiva y estrés fisiológico cuando se elevan las temperaturas o disminuyen los niveles de nutrientes. Se encontró que las mortalidades fueron mayores hacia los meses de primavera y verano y de acuerdo con

Hernández-González (1989), la gametogénesis de *Crassostrea gigas*, en Bahía Falsa ocurre en primavera y su maduración se presenta durante verano y otoño. Con base a estos datos, cabe la posibilidad de que la mortalidad de *C. gigas* en Bahía Falsa, se debió a causas relacionados con estrés reproductivo.

Perdue *et al* (1981) realizaron un estudio para determinar la relación entre la mortalidad de verano y los aspectos fisiológicos reproductivos de *C. gigas*, los autores indican que periodos largos de exposición, temperaturas altas y poca disponibilidad de alimento son detonadores en la cantidad de animales que mueren por estrés fisiológico. Posiblemente para los ostiones de Bahía Falsa, condiciones como la exposición a aire o la renovación del agua, no fueron adecuadas para el crecimiento y sobrevivencia de *C. gigas*. Como se menciona en la sección de resultados, se encontró que la mortalidad mensual es mayor en Agromarinos que en Alfonsos, y en ambas localidades se observó una mayor mortalidad en los ostiones colocados cerca del fondo (nivel inferior de la "sarta"). Es importante que consideremos que los detritus que son producidos por los ostiones, dan por resultado un fondo lodoso donde la degradación de materia orgánica es común (Chávez-Villarreal, 1993). Estas condiciones pueden ser inapropiadas para que los ostiones crezcan y sobrevivan. Aunando a esto, el hecho de que Agromarinos se localiza cerca de praderas de pastos marinos (*Zostera marina* L.) y la renovación del agua es baja (Grosline y Stewart, 1962). En contraste, Alfonsos se localiza cerca de un canal de mareas, donde el agua fluye rápidamente favoreciendo así la renovación del agua cerca del fondo (Grosline y Stewart, 1962).

La alta mortalidad acumulada y la talla de los ejemplares muertos, sugieren que es importante, en un futuro, realizar estudios específicos para ahondar en las causas de mortalidad de los ostiones en Bahía Falsa. Se sugiere que es necesario realizar un estudio de la carga parasitaria que cubra todo el periodo de cultivo (semilla-adulto).

IV. 8 Temperatura

Es importante mencionar que aun cuando se encontró que existen diferencias de temperatura entre las localidades, estas diferencias no son mayores de medio grado centígrado. Sin embargo, las diferencias de temperatura obtenidas entre los dos termógrafos en las dos localidades pueden deberse al hecho de que las condiciones batimétricas son distintas en ambos sitios. Alfonsos ubicado hacia la cabeza de la bahía, presenta una profundidad menor y al bajar la marea el instrumentó queda en una pequeña columna de agua teniendo una respuesta mayor al calentamiento o enfriamiento diurno mientras que en Agromarinos, ubicado hacia la boca de la bahía y con mayor profundidad se tiene un menor aumento o disminución de temperatura bajo la misma ganancia o pérdida de calor.

V. CONCLUSIONES

Este es el primer registro de la presencia de ácaros marinos asociados a *Crassostrea gigas*. Estos organismos pertenecen a la Familia Pontharachnidae, la cual incluye ácaros marinos que viven en el litoral marino. Se encontraron en la cavidad paleal de los ostiones de Alfonsos y su asociación muy probablemente es circunstancial.

En la cavidad paleal de los ostiones cultivados en Alfonsos se observó la presencia de larvas de insecto de la especie *Thetymia aptena* pertenecientes a la Familia Chironomidae sin observar daño alguno por su presencia.

En ambas localidades se observó la presencia de nemátodos pertenecientes a la Subclase Adenophora ubicados en la cavidad paleal de los ostiones. La asociación con los ostiones es, muy probablemente, circunstancial.

Se observó la presencia de un gusano poliqueto perteneciente al género *Polydora*. La especie pudiese ser *P. limicola* o *P. ciliata*, ambas indistinguibles morfológicamente, por lo que estudios genéticos son necesarios para aclarar su identidad. Su asociación con los ostiones es como simbiote, encontrándose en la parte interna de las valvas. No se detectaron daños importantes por su presencia en el hospedero.

Se observaron bacterias con forma de bacilos, el tipo de asociación con los ostiones es intracelular, observándose dispersas en el tejido conectivo de la glándula digestiva.

La presencia de cuerpos de inclusión fueron observados en ambas localidades, con características morfológicas similares a los protozoos parásitos tipo haplosporidio. Su presencia se observó intracelularmente en las células epiteliales de los divertículos

digestivos del intestino y estómago y ocasionalmente en manto y branquias. No se observaron daños en el hospedero asociados a la presencia del cuerpo de inclusión.

En algunos casos se observaron cuerpos de inclusión de apariencia dudosa, posiblemente sean estos microorganismos procariotes tipo rickettsias. Estos organismos se encontraron en las células epiteliales de los divertículos digestivos. No se observó daño para el hospedero debido a su presencia.

No existió relación entre el IC de los ostiones y la carga parasitaria encontrada en los ostiones de Bahía Falsa, así como tampoco existió relación con la mortalidad registrada durante el periodo de muestreo. Indicando esto, que los ostiones en Bahía Falsa son organismos sanos.

Entre localidades, los ostiones de Agromarinos tuvieron mejores IC que los ostiones de Alfonsos. Respecto a la profundidad, los ostiones colocados cerca del fondo presentaron menores IC que aquellos ostiones colocados cerca de la superficie.

La clase de talla más frecuente de los organismos muertos fue de entre 8 a 14 cm. Indicando lo anterior que los ostiones muertos tenían talla comercial, cabe la posibilidad de que los ostiones posiblemente murieron por estrés reproductivo, aunque para tal aseveración son requeridos estudios posteriores.

En Agromarinos, las mortalidades mayores se registraron en junio de 1996 y marzo de 1997 y en aquellos ostiones colocados cerca del fondo. En Alfonsos la mayor mortalidad se registró en primavera (febrero y marzo de 1997) y en los ostiones del

nivel inferior de la sarta. Entre localidades, en Agromarinos fue mayor la mortalidad que en Alfonsos.

Con esta información se recomienda que las artes de cultivo se modifiquen, aumentando la distancia entre los ostiones del nivel inferior y el fondo lodoso, considerándose que las condiciones actuales no son las más adecuadas para la sobrevivencia de los ostiones.

También se recomienda tener un monitoreo y control permanente de la introducción de especies a la Bahía, ya que esta zona es idónea para el crecimiento y sobrevivencia de los ostiones.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, M.P. 1979. "Biología del mejillón (*Mytilus edulis*) de cultivo de la Ría de Vigo". Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 5(3): 107-160 p.
- Alvarez-Borrego, S., G. Ballesteros-Grijalba y A. Chee-Barragán. 1975. "Estudios de algunas variables fisicoquímicas superficiales en Bahía San Quintín, en el verano, otoño e invierno". Ciencias Marinas. 2(2): 1-9 p.
- Bachere, E., E. Mialhe., D. Noel., V. Boulo., A. Morvan y J. Rodriguez. 1995. "Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology". Aquaculture. 132: 17-32 p.
- Barnes, D. R. 1986. "Zoología de los Invertebrados". Cuarta edición. Nueva Editorial Interamericana. 1157 pp.
- Bartsch, I. 1988. "*Thalassophthirius auster* gen. et. spec. nov., a halacarid mite (Acari) suspected of being a parasite". Polar Research. 6: 181-184 p.
- Baker, W. E. y G. W. Wharton. 1952. "An Introduction to Acarology". The Macmillan Company. New York. 465 pp.
- Blake, A. 1996. "Family Spionidae Grube, 1850". En: "Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel. Vol. 6. The Annelida Parte. 3". Santa Barbara Museum of Natural History. Santa Barbara. 81-223 p.
- Cáceres-Martínez, C. y García-Bustamante, G. 1987. "Cultivo piloto de ostión *Crassostrea gigas* T. en costales sobre estantes en la zona intermareal en la Bahía

- Magdalena, B.C.S.: Influencia de la densidad sobre el crecimiento". Resumen VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada Baja California, México, 10 p.
- Cáceres-Martínez, J., J.A.F. Robledo y A. Figueras. 1995. "Presence of *Bonamia* and its relation to age, growth rates and gonadal development of the flat oyster, *Ostrea edulis*, in the Ría de Vigo, Galicia". Aquaculture 130: 15-23 p.
- Caullery, R. C. y Mesnill, T. J. 1982. "Haplospororida". En: Kudo, R. R (ed). "Protozoologia". C.E.C.S.A. México. 565-595 pp.
- Comps, M. y Y. Pichot. 1991. "Fine structure of a haplosporidian parasitizing *Crassostrea gigas*: Taxonomic implications". Dis. Aquat. Org. 11(1): 73-77 p.
- Comps, M., Bonami J. R. y C. Vago. 1977. "Pathologie des invertébrés. Mise en évidence d'une infection rickettsienne chez les Huîtres". C. R. Acad. SC. Paris. t. 285 SerieD-427-429.
- Chávez de Nishikawa, A. G. y Acosta Ruíz, M. J. 1986. "Desarrollo Histórico de la acuicultura en Baja California, México". En: Dirección general de Oceanografía Naval de la Secretaría de Pesca (eds). "Memorias del I Simposio Nacional sobre el desarrollo histórico de las Investigaciones Oceanológicas en México". Talleres gráficos de la Secretaría de Marina, México, 50-60 pp.
- Chitwood, B.G. 1960. "A preliminary contribution to the marine nemas (Adenophorea) of Northern California". Trans. Amer. Micr. Soc. 79: 347-384 p.
- Elston, R.A. y Wilkinson, M.T. 1985. "Pathology, management and diagnosis of oyster velar virus disease (OVVD)". Aquaculture. 48: 189-210 p.

- FAO. 1994 . "Review of the state of world marine fishery resource". Fisheries Technical Paper No. 121. Roma.
- FAO. 1996. "Review of the state of world marine fishery resource". Fisheries Thecnical Paper No. 335. Roma.
- Farley, A.C. 1967. "*Minchinia nelsoni* (Haplosporida) Disease Syndrome in the American oyster *Crassostrea virginica*". J. Protozool. 15(3): 585-599 p.
- Farley, A.C., P. H. Wolf y R.A. Elston. 1988. "A long-term study of microcell disease in oysters with a description of a new genus, *Microcytos* (G.N.), and two new species, *Microcytos makini* (SP.N.) and *Microcytos roughleyi* (SP. N.)". Fishery Bulletin. 86 (3): 581-591 p.
- Ford, S. E. 1992. "Avoiding the transmission of disease in comercial culture of molluscs, with special reference to *Perkinsus marinus* (Dermo) and *Haplosporidium nelsoni* (MSX) ". J. Shellfish. Res. 11(2): 539-546 p.
- Ford, S. E. y H. H. Haskin. 1988. "Comparation of in vitro salinity tolerance of the oyster parasite, *Haplosporidium nelsoni* (MSX) and hemocytes form the host, *Crassostrea virginica*". Comp. Biochem. Physiol. 90A(1): 183-187 p.
- Friedman, S. C. 1996. "Haplosporidian infections of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in California and Japón". J. Shellfish. Res. 15(3): 597-600 p.
- Friedman, S. C., J. H. Beattie, R. A. Elston y R. P. Hedrick. 1991a. "Investigation on the relationship between the presence of a Gram-positive bacterial infection and

- summer mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg".
Aquaculture. 94: 1-15 p.
- Friedman, S. C., Cloney, D. Manzer y P. R. Hedrick. 1991b. "Haplosporidiosis of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*". J. Invertebr. Pathol. 58(3): 363-372 p.
- Galtsoff, P.S. 1964. "The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin". U. S. Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service. Vol. 64. Washington. 457 pp.
- Gee, F.M. y T. J. Davey. 1986. "Experimental studies on the infestation of *Mytilus edulis* (L.) by *Mytilicola intestinalis* (Copepoda, Cyclopoidea)". J. Cons. Int. Explor. Mer. 42: 265-271 p.
- González, G. M. A. 1997. "Variación temporal de la calidad de ostión japonés (*Crassostrea gigas*, Thunberg) en cultivos comerciales de Bahía San Quintín". Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California, México. 82 pp.
- Grosligne, D.S y R.A. Stewart. 1962. "Benthic marine exploration of Bahía De San Quintín, Baja, California, 1960-1961". Pacific Naturalist. 3(8): 282-319 p.
- Handley, J.S. y P.R. Bergquist. 1997. "Spionid polychaete infestations of intertidal Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg), Mahurangi Harbour, Northern New Zealand". Aquaculture 153: 191-205 p.
- Hernández-González, E. M. 1989. "Descripción del desarrollo gonádico en *Crassostrea gigas* (ostión japonés) de campo y laboratorio". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada. 89 pp.

- Hervio, D., S. M. Bower y G.R. Meyer. 1996. "Detection, isolation, and experimental transmission of *Microcytos mackini*, a microcell parasite of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg)". J. Invertebre. Pathol. 67: 72-79 p.
- Hopkins, H.S. 1958. "The planktonic larvae of *Polydora websteri* Hartman (Annelida, Polichaeta) and their settling on oyster". Bull. Mar. Sci. Gulf Carib. 8: 268-277 p.
- Hurny, D.A. y D.G. Perlmutter. 1988. "Insecta". En: Higgins, P.R. y H. Thiell (eds). "Introduction to the Study of Meiofauna". Smithsonian Institution Press, Washington, 428-435 pp.
- Inclán-Rivadeneyra, R. y M. J. Acosta-Ruíz. 1989. "La comunidad incrustante en balsas para el cultivo del ostión japonés *Crassostrea gigas* en Bahía San Quintín, México". Ciencias Marinas. 15(1): 21-38 p.
- Katkansky S.C. y R.W. Warner. 1970. "Sporulation of a haplosporidian in a Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Humboldt Bay, California". J. Fish. Res. Bd. Canada. 27: 1230-1321 p.
- Kern, F. G. 1976. "Sporulation of *Minchinia* sp. (Haplosporida, Haplosporidiidae) in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) from the Republic of Korea". J. Protozool. 23(4): 498-500 p.
- Kinne, O. 1983. "Diseases of marine animals". Vol. II. "Introduction, Bivalvia to Scaphopoda". Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg. 1037 pp.

- Kleinschuster, S. J., S. E. Ford y S. L. Swink. 1994. "*In vitro* culture and maintenance of *Haplosporidium nelsoni* (Haskin, Stauber and Mackin, 1966) Sprague 1978 (MSX)". J. Shellfish. Res. 13(1): 143-155 p.
- Lara-Lara, J. R. 1975. "Ciclo anual de clorofila y producción orgánica primaria en Bahía San Quintín, B.C. ". Tesis Escuela Superior de Ciencias Marinas. 60 pp.
- Lara-Lara, R. y S. Alvarez-Borrego. 1975. "Ciclo anual de clorofilas y producción orgánica primaria en Bahía San Quintín, B.C.". Ciencias Marinas. 2(1): 77-97 p.
- Laukner, G. 1983. "Diseases of Mollusca: Bivalvia". En Kinne O. (ed). "Diseases of marine animals". Vol. II. "Introduction to Scaphopoda". Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg. 532-553 pp.
- Light, W. J. 1978. "Spionidae Polychaeta Annelida". The Boxwood Press. Pacific Grove. 211 pp.
- Littlewood, D. T., R.N. Wargo, J. N. Kraeuter y R.H. Watson. 1992. "The influence of intertidal height on growth, mortality and *Haplosporidium nelsoni* infection in MSX Mortality resistant eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791)". J. Shellfish. Res. 11(1): 59-64 p.
- Mann, R. 1978. "Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures". J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 58: 95-110 p.
- Millán-Núñez, R., S. Álvarez-Borrego y D.M. Nelson. 1982. "Effects of physical phenomena on the distribution of nutrients and phytoplankton productivity in a coastal lagoon". Est. Coast. Shelf Sci. 15: 317-335 p.
- Morris, H. R., D. P. Abbott y E. C. Haderlie. 1980. "Intertidal Invertebrates of California". Stanford University Press. Stanford. 690 pp.

- Newell, I. M. 1947. "A sistematic and ecological study of the Halacaridae of easter North America". Bull. of the Bingham Oceanografic Colección, Peabody Museum of Natural History, Yale University. 10(3): 1-232 pp.
- NOAA. 1983. "Histological tecniques for marine bivalve mollusk". NMFS-F/ NEC-25. 97 p.
- Palacios, F.M. y García, S.S. 1988. "Manual técnico para la operación de centros acuícolas productores de ostión". Secretaria de Pesca. México. 324 pp.
- Perdue, J. A., J. H. Beattie y K. K. Chew. 1981. "Some relation between gametogenic cycle and summer mortality phenomenon in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Washington State". J. Shellfish. Res. 1(1): 9-16 p.
- Pereyra, W. T. 1964. "Mortality of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in various exposure situations in Washington". Proc. Natl. Shellfish Asocc. 53: 51-63 p.
- Perkins, F. O. 1979. "Cell structure of shellfish pathogens and hyperparasites in the genera *Minchinia*, *Urosporidium*, *Haplosporidium* and *Marteilia*: taxonomic implications". Mar. Fish. Rev. 41: 25-37 p.
- Pugh, A. J. P. y I. Bartsch. 1993. "Ecology of the littoral Halacaridae (Acari: Prostigmata) of South Georgia in the sub-Antarctic". J. of Natural History. 28: 75-85 p.
- Radashevsky, V. I. 1993. "Life history of a new *Polydora* species from the Kurile Islands and evaluations of lecitrotrophy in polydoryd genera (Polychaeta: Spionidae)". Ophelia 39:121-136 p.
- Ramírez-Filippini, P., D. H. Chávez-Villalba y C. Cáceres-Martínez. 1987. "Cultivo del ostión japonés *Crassostrea gigas* T. en costales sobre estantes en la zona

- intermareal en Bahía Magdalena B. C. S.: estado comparativo de crecimiento y resistencia con el cultivo en suspension". Resumen del VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada. 12 p.
- Robledo, J. A. F., M. M. Satarém y A. Figueras. 1994. "Parasite loads of rafted blue mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Spain with special reference to the copepod, *Mytilicola intestinalis*". Aquaculture. 127: 287-302 p.
- Rossenfield, A. C., A. Farley y J. A. Couch. 1966. "Parasites of Taiwan oyster". U.S. Bureau of Comercial Fisheries, Biological Laboratory, Oxford, M.D. Manuscript Report No. 66-8 p.
- Shaw, B. L y I. H. Battle. 1957. "The gross microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin)". Can. J. Zool. 35: 325-346 p.
- Sindermann, J, C. 1990. "Pricipal Diseases of Marine Fish and Diseases", Vol II. "Diseases of Marine Shellfish". Academic Press, Inc. Segunda Edición. San Diego. 400 pp.
- Smith, I. R. y J. T. Carlton. 1975. "Ligth's Manual: Intertidal Invertebrate of the Central California Coast". University of California Press. Tercera edición. Berkeley. 717 pp.
- Stephen, D. 1978. "Mud blister formation by *Polydora ciliata* in the Indian blackwater oyster *Crassostrea madresensis* (Preston)". Aquaculture. 13: 347-350 p.

Usinger, L.R. 1970. "Class Insecta (part of superclass Labiata)". En: Light, F. S. (ed).

"Intertidal Invertebrates of the Central California Coast". University of California Press, Berkeley, 189-194 p.

Villarreal-Chávez, G. 1993. "Impacto ambiental de un cultivo del ostión *Crassostrea gigas* en Bahía Falsa, Baja California. México". Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 60 p.

Warwick, L.N. 1975. "The biology of free-living nematodes". Oxford University Press. Oxford. 219 pp.

Wilson, C. B. y H. W. Clark . 1912. "The mussel fauna of the Maumee River". En: C. W. Hart y L. H. Fuller (eds). "Pollution ecology of freshwater invertebrates". Academic Press Inc, New York, 226 pp.

Zottoli, K. A. y R. M. Crariker. 1974. "Burrow mophology, tube formation, and microarchitecture of shell dissolution by the spionid polychaete *Polydora websteri*". Mar. Biol. 27: 307-316 p.

Apéndice 1. La carne del ostión es deshidratada e incluida en parafina en un

Histoquinete Reichert-Jung con los siguientes tiempos:

Producto	Tiempo (horas)
Etanol 70°	1
1° Etanol 96°	2
2° Etanol 96°	2
1° Etanol 100°	2
2° Etanol 100°	2
Etanol-Benceno	3
1° Benceno	2
2° Benceno	2
Benceno-Parafina	3
1° Parafina	2
2° Parafina	2

Apéndice 2. Los cortes histológicos ya montados fueron teñidos mediante la técnica de tinción Hematoxilina - Eosina.

Producto	Tiempo (minutos)
1° Xileno	5
2° Xileno	5
3° Xileno	5
1° Etanol 100°	5
2° Etanol 100°	5
Etanol 95°	3
Etanol 70°	3
Etanol 50°	3
Etanol 30°	3
Agua destilada	2
Hematoxilina	8
Agua destilada	2
Alcohol ácido *	1
Agua de la llave	5
Agua destilada	3
Etanol 95°	3
Eosina	3
Etanol 95°	3
1° Etanol 100°	1 1/2
2° Etanol 100°	3
Xileno-Etanol 100°	5
1° Xileno	5
2° Xileno	5

Alcohol ácido= 99 ml de etanol al 70 % + 1 ml de ácido clorhídrico.

Apéndice 3. Trabajo publicado.

Polydora sp. infestation and health of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*
cultured en Baja California, NW México.

Jorge Cáceres-Martínez, Patricia Macías-Montes de Oca y Rebeca
Vásquez-Yeomans.

Trabajo publicado en J. Shellfish Res. 17(2): 1-6 p. 1998.

Revista considerada en el J. of Citation Reports.

POLYDORA SP. INFESTATION AND HEALTH OF THE PACIFIC OYSTER *CRASSOSTREA GIGAS* CULTURED IN BAJA CALIFORNIA, NW MEXICO

JORGE CACERES-MARTINEZ,*

PATRICIA MACIAS-MONTES DE OCA, AND

REBECA VASQUEZ-YEOMANS

Laboratorio de Patología de Moluscos del Departamento de Acuicultura,
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada,
Km. 107 Carret. Tijuana-Ensenada Apdo. Postal 2732, 2800, Ensenada,
Baja California, México

ABSTRACT The culture of the Oyster *Crassostrea gigas* Thunberg is the most important aquaculture activity in the state of Baja California, NW México. Its production is obtained from Bahía Falsa, at South of the state, reaching 2,500 metric tons per year and is sold in national and international markets. However, there is a lack of information on commensals and parasites affecting cultured oysters. A survey of worm blister on the inner valves of cultured oysters was performed from May 1996 to April 1997. Two locations were sampled: the outer and inner areas of the bay, at three depths. Direct counts of worm blisters and quantification of the area occupied by worm blisters on the inner valves were used as evaluation methods. The burrowing worm belonged to the genus *Polydora* (*Polichueta*: *Spionidae*). Its prevalence was higher in oysters from the outer relative to the inner locations, and was also higher in oysters placed near the substrate relative to those near the surface of the water. There was a trend of lower condition index and higher mortality in oysters placed near the muddy bottom. The placement of culture oysters away from the bottom and exposed to air during low tides may reduce the prevalence of *Polydora* sp. and oyster mortality.

KEY WORDS: *Crassostrea gigas*, *Polydora* sp. burrowing worms, worm blisters, parasitology, mortality.

INTRODUCTION

The Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg was introduced in Bahía Falsa (200 km south of Ensenada city) Baja California in 1972 for culture purposes (Rangel-Dávalos, 1990) (Fig. 1). The culture technique introduced originally, using floating rafts, was suddenly abandoned and a new technique using wood frames locally named "racas" was developed. Nylon ropes of 150 cm in length with attached oysters (named "sartas") are suspended from the racas (Fig. 1). At present, 10 private companies culture Pacific oysters using this method. Production averages 2,500 metric tons per year; oysters are sold in México and the United States and were valued at 2.5 million US dollars in 1995. In spite of the increasing importance of this culture, no studies on parasites and commensals of the Pacific oyster cultured in Bahía Falsa have been conducted. Oyster culturists have observed the presence of burrowing worms (blister worms) in the inner valves of oysters with increased prevalence during the summer-autumn seasons. An increase in mortality has also been observed during these seasons. However, burrowing worm infestations in relation to mortality has not been assessed. Burrowing worms from the genus *Polydora*, have been associated with oyster stunting, general weakening, poor condition and increased mortality (see review by Lauckner, 1983).

The objectives of the present study were: to identify the burrowing worms from the inner valves of *Crassostrea gigas* cultured in Bahía Falsa, Baja California; to document its infestation level using two different methods at different places and depths; to assess its relationship with both oyster condition index and mortality in the culture area; and to suggest management alternatives for its control.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in Bahía Falsa, Baja California, México from May 1996 to April 1997 (monthly samplings). Two

localities, "Agromarinos" in the outer area of the bay and "Alfonso", in the inner area of the bay were sampled (Fig. 1). In each locality, one or two sartas carrying from 30 to 50 commercial size oysters were collected from the racas (mean total shell length, 12.73 mm $\pm$ 6.6 in Agromarinos, mean total shell length, 10.95 mm $\pm$ 3.1 in Alfonso). The sartas, of about 150 cm in length, were divided into 50 cm sections: upper, middle, and lower levels (Fig. 1). Approximately 10–20 oysters from each level were grouped separately for analysis. In Agromarinos the upper and middle levels of the sarta are exposed to air during low tides, and the lower level of the sarta is always under water and never touches the bottom. In Alfonso the entire sarta is exposed to the air during low tides and the end of the sarta touches the bottom on some occasions. During samplings, temperature (°C) and salinity (ppt) in each locality were recorded with a conventional sea water thermometer and refractometer, respectively.

Live oysters were counted every month and after removing all fouling organisms with a brush and a jet of sea water, oysters from each level were measured (maximum axis as total length) and weighted (total wet weight, TW). Oysters were opened and checked for worm blisters, worms were carefully extracted from the blister with the aid of a needle, and preserved in 70% ethanol. The identification was performed with the aid of specialized keys (Light 1978 and Blake 1993). The wet meat weight (MW) and shell weight (SW) were also recorded in order to obtain a condition index (Aguirre 1979):

$$CI = \frac{MW}{(TW - SW)} \times 100$$

This CI takes into account the relation of meat and water in the pallial cavity, lower values indicate more water than meat inside the shell (poor condition). Furthermore, the use of this CI allowed the preservation of the oyster flesh for histological studies. Prevalence was defined as the number of infested oysters per number of oysters examined times 100. Prevalence was estimated from the inner

* Author to whom all correspondence should be sent.

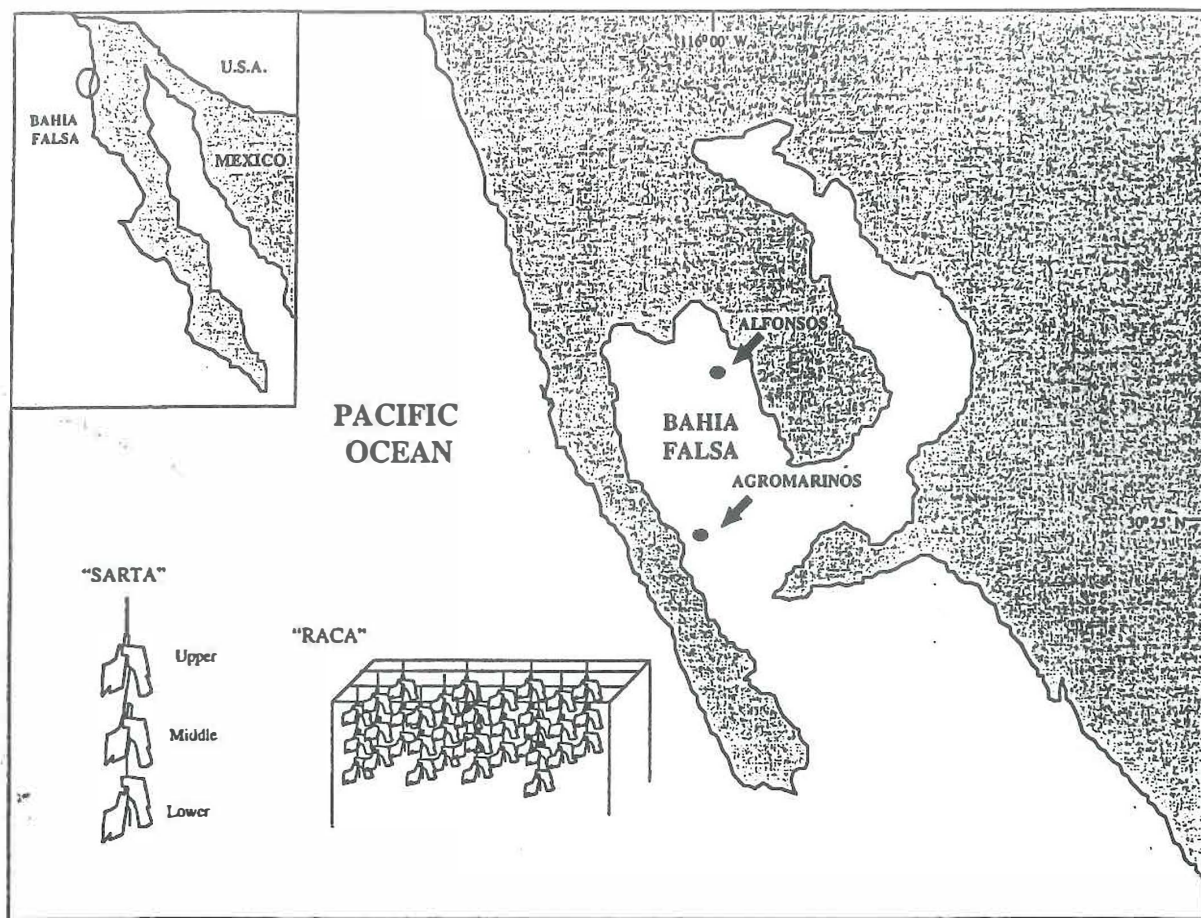


Figure 1. Map showing the study sampling sites in Bahía Falsa, Baja California, México. The oyster culture wood frames locally named "racas" and the nylon ropes where the oysters are placed named "sartas" are shown. Oysters from the sarta were separated into three levels: upper, middle and lower.

shells (both valves from each oyster) following two methods: 1) counting the number of worm blisters placed in the inner shells of each oyster, 2) estimating the area of each worm blister using aluminum fold mouldings in the inner shell of each oyster and the area of each entire inner shell surface. Aluminum folds were made to conform to the shape of worm blisters and the inner shell surface. The folds were carefully cut and weighed. Pieces of aluminum folds from 5 to 25 mm² were weighed, to obtain a linear least square regression equation [aluminum area (mm²) = 10.9044 + 133.077 (wt. mg), $r^2 = 0.91$, $n = 40$]. Then the area of the surface of inner oyster shells and blisters was calculated by using the weight obtained from the aluminum mouldings obtained. Mean prevalence was correlated by linear regression with the obtained CI of oysters from different levels. Mortality was assessed by counting the number of empty shells from each sarta level every month, values showed cumulative mortality at each sarta level in the corresponding sampling month.

Differences between prevalence per locality were assessed by a non-parametric Mann-Whitney test. Student's *t*-tests were used to compare significant differences between oyster mortality from Agromarinos and Alfonso's. Salinity and temperature were also compared with this statistical test. Condition index differences

between locality, month and level of the sartas, were evaluated with a nested ANOVA.

RESULTS

The burrowing worm found in *C. gigas* was clearly identified as a Spionidae polichaete of the genus *Polydora* (see Light 1978 and Blake 1993). However, its morphological characteristics were different than those described for any species belonging to this genus. Specific taxonomic studies are being performed to determine whether this is a new species. The worm was found forming "u" channels and only one worm per channel was found. The size of the worms varied from 0.5 mm to 10.4 mm of total length. Worm blisters were more abundant near the valve edges and they were more abundant in the right valve than in the left valve, 76% in Alfonso's and 77% in Agromarinos. The areas occupied by worm blisters and their relation with inner valve areas is shown in Table 1. One single worm blister may range from 1.2 to 4.2 mm², occupying from 0.18 to 0.96% of the host valve. On three occasions wide water blisters were found (approximate area 9.7 mm²); however, worms were not found inside these tubes.

The relationship between CI and blister number and total blister area per oyster is shown in Fig. 2. No correlation was observed

TABLE 1.
Areas occupied by worm blisters and inner shell surfaces of the oysters.

Agromarinos			
	Blister area mm ²	Valve area mm ²	Total occupation (both valves) (%)
Left valve	2.66–4.58	391.96–819.9	0.44–0.77
Right valve	2.68–4.20	267.70–589.45	0.26–0.96
Alfonso			
Left valve	1.05–2.95	280.09–641.35	0.42–0.88
Right valve	1.22–3.45	248.24–454.91	0.18–0.66

between the CI and either blister number or blister area. A comparison among the CI of oysters from both sites and depths during the study period indicated that, the CI was higher in oysters from Agromarinos than in oysters from Alfonso [F(1,789) = 37.75, p

< 0.001]. Throughout the sampling period the CI of the oysters from the two sampled sites was variable [F(20,789) = 9.36, p < 0.001] (Fig. 3). In Agromarinos, low mean CI and high mud worm prevalence (see below) were recorded in July (Figs. 3A and 4A). In Alfonso, high mean CI and high mud worm prevalence (see below) were recorded in June (Figs. 3B and 4B). In both localities, the CI was related with depth. In general, low values were recorded in oysters from the lower sarta level [F(44,789) = 3.1, p < 0.001].

In Agromarinos, the highest worm prevalences were recorded from June to August, the lowest prevalences were recorded in November and December 1996 and April 1997 (Fig. 4A). *Polydora* sp. prevalences were higher in the lower than in the middle and upper sarta levels. The number of worms per host varied from one to six and the highest values were recorded in the lower level between June and September (Table 2).

In Alfonso, the highest prevalence was observed in June and the lowest prevalences were recorded in October and December 1996. The highest prevalence of infestations was observed in the lower level relative to the other levels (Fig. 4B). The number of worms per host varied from one to three, and the highest numbers were observed in June in the lower level (Table 2). Prevalence was higher in Agromarinos than in Alfonso (Mann-Whitney test, T = 908, p < 0.01).

In Agromarinos, the highest mortalities were recorded in July 1996 and March 1997. There was a trend of higher mortality in the lower and middle levels, but not in the upper level of the sarta (Fig. 5A). In Alfonso, the highest mortalities were observed in Febru-

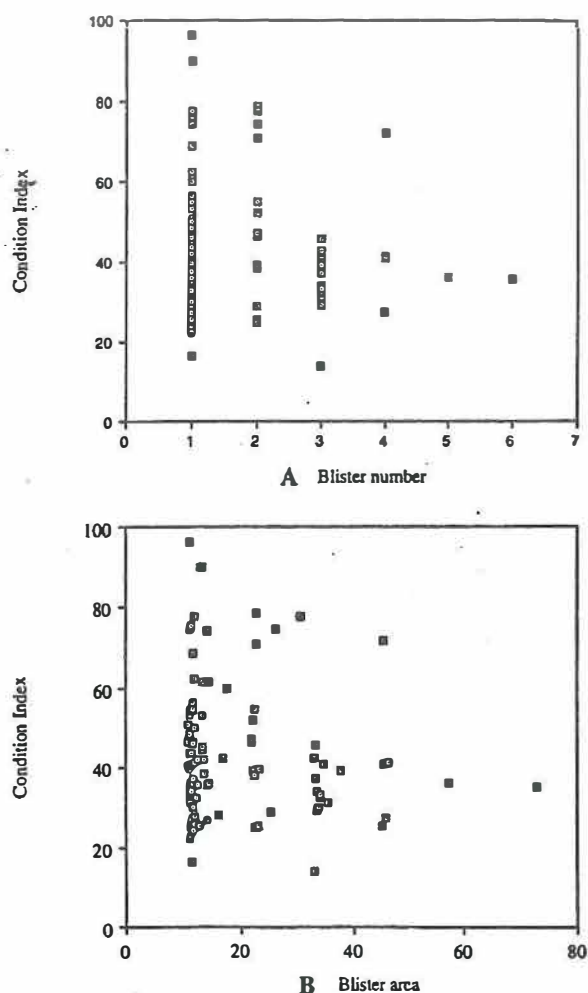


Figure 2. Relationship between blister number and oyster condition index (A) and between blister area and oyster condition index (B).

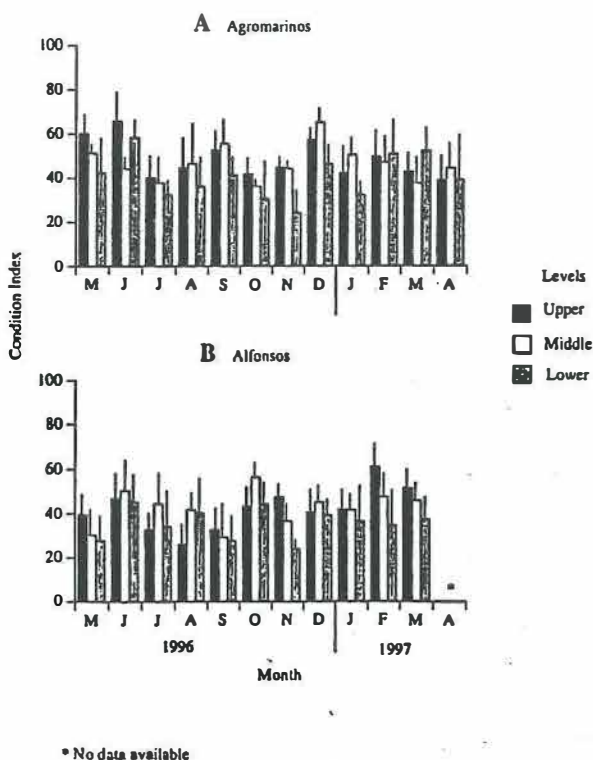
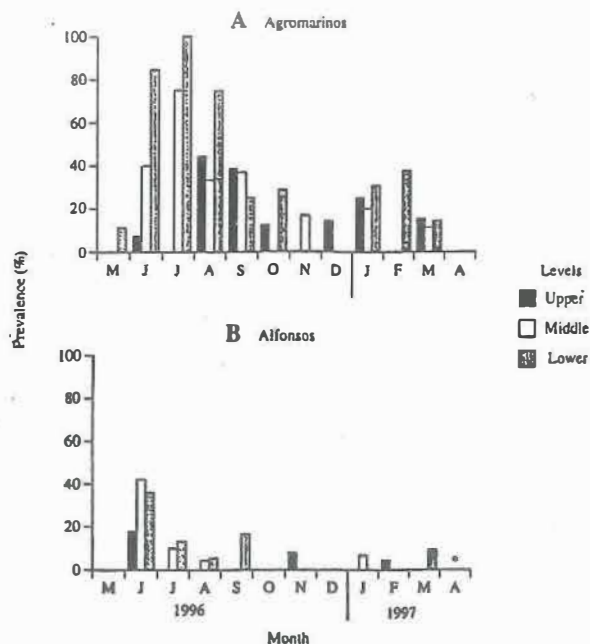


Figure 3. *Polydora* sp. prevalence at three depths (levels) in the two sampling sites, (A) Agromarinos, in the outer area of the Bahía Falsa and, (B) Alfonso in the inner area of the Bahía Falsa, Baja California, México.



* No data available

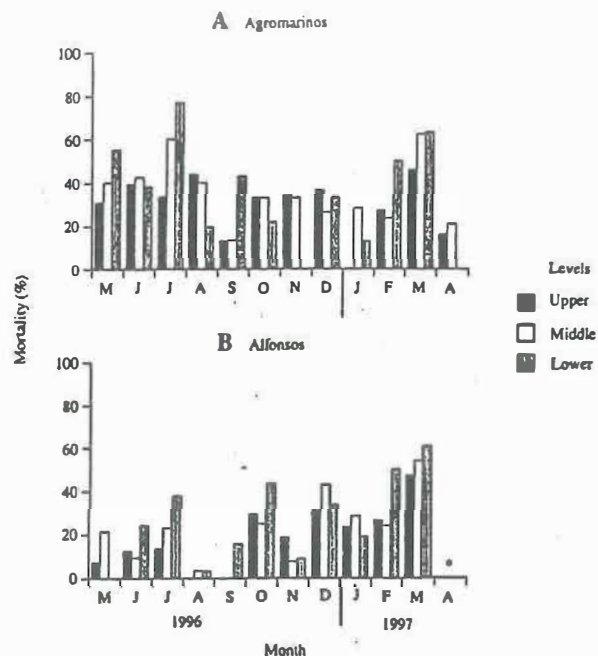
Figure 4. *Crassostrea gigas* Condition Index (CI) at three depths (levels) in the two sampling sites, (A) Agromarinos, the outer area of the Bahía Falsa and, (B) Alfonsos in the inner area of the Bahía Falsa, Baja California, México.

ary and March 1997. The highest mortalities were observed in the lower level (Fig. 5B). Mortality was higher in Agromarinos than in Alfonsos ($t = 2.54$, $p < 0.05$). There were no significant differences between mean temperature and salinity from both sample sites and their values exhibited similar monthly variations (t -test, $p > 0.05$) (Fig. 6).

TABLE 2.

Range of numbers of *Polydora* sp. per oyster, *Crassostrea gigas*, from sarta levels and localities during the study period (*no data available).

Sarta level	Agromarinos (outer locality)			Alfonsos (inner locality)		
	Upper	Middle	Lower	Upper	Middle	Lower
1996						
March	0	0	0-2	0-0	0	0
June	0-1	0-2	0-4	0-1	0-1	0-3
July	0-0	0-4	0-6	0	0-1	0-1
August	0-3	0-2	0-3	0	0-1	0-1
September	0-4	0-3	0-4	0	0	0-1
October	0-1	0	0-1	0	0	0
November	0	0	0	0-1	0	0
December	0	0	0	0	0	0
1997						
January	1-2	0-1	1-3	0	1-2	0
February	0	0-1	0	0	0	0
March	0	0	0	0	0	0
April	0	0	0	*	*	*



* No data available

Figure 5. *Crassostrea gigas* mortality at three depths (levels) in the two sampling sites, (A) Agromarinos, the outer area of the Bahía Falsa and, (B) Alfonsos in the inner area of the Bahía Falsa, Baja California, México.

DISCUSSION

Some spionid polychaete species from the genus *Polydora*, bore into the shells of several bivalve mollusks including oysters, clams, and mussels. These hosts cover the worms with semitransparent shell material (conchiolin covered with nacre), the formation is called a worm blister (Korringa 1951). Some worm blisters are wider than others, theoretically, the construction of a wide blister requires more energy from the host than the construction of a narrow one. In consequence, the determination of the blister area and its relation with the CI of the host could be a better measurement of the effect of the worm on the host than counting the number of blisters. In accordance with Lauckner (1983), a significant reduction of available shell-cavity volume attributable to blisters interferes with the general physiology of oysters. However, in the present study, the calculation of blister area and its relation with the CI of the host were similar to the blister number in assessing the effect of the worm. This could be related with the low intensity of infestation recorded in this study, the maximum number of worms per oyster was six. In contrast, more than 30 worms per oyster have been found in other studies (see Lauckner 1983). In oysters of low infestations, the effect of burrowing worms may be difficult to detect using gross indicators such as the CI; a finer physiological comparison may be more effective in determining effects (i.e., filtration rates). Thus, the relationship between the blister area and the CI of the host, in comparison to the relationship of blister number and condition index of the host, must be assessed in heavily infested bivalves. Variability in the CI from both study sites may be related to the season (food availability) and/or repro-

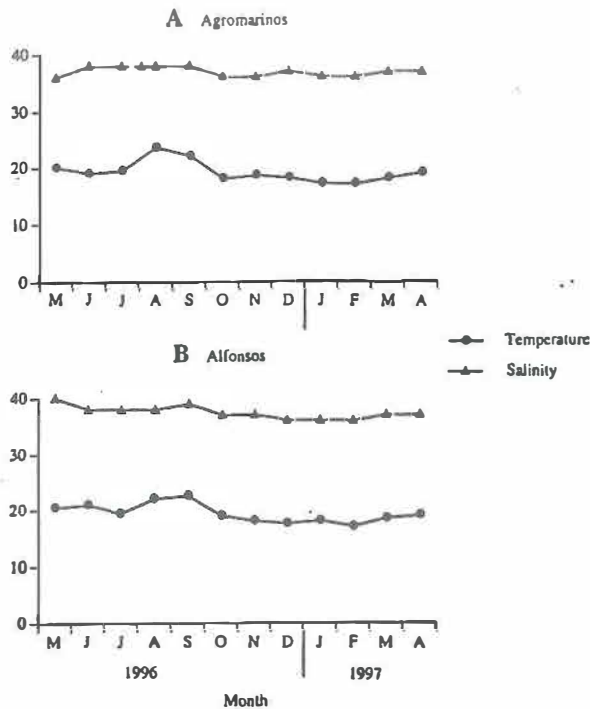


Figure 6. Temperature (°C) and salinity (ppt) fluctuations in the two sampling sites, (A) Agromarinos, the outer area of the Bahía Falsa and, (B) Alfonso in the inner area of the Bahía Falsa, Baja California, México.

ductive stage. The higher CI observed in oysters from Agromarinos (outer bay) than those from Alfonso (inner bay) could be related to differential food availability. Lara-Lara and Alvarez-Borrego (1975), Millán-Núñez et al. (1982) and González (1987) found that chlorophyll *a* was more abundant in the outer than in the inner part of Bahía Falsa. In both localities, the CI was better in oysters from the upper level than the CI of oysters from the middle and lower levels of the sarta. This suggests that the placement of oysters near the bottom, in the sites studied here, may be inappropriate.

If the infestation of organisms like *Polydora sp.* depends on a chance encounter between the worm and the host (Gee and Davey, 1986; Robledo et al., 1994), one reason for the gradient of most infested oysters in the lower than in the upper sarta, could be the major exposure time of the host to the worm in permanently submerged conditions of oysters placed in the sarta near the bottom. Air exposure may also be important for the survival of the worm. Ramírez Filippini et al. (1987) examined *Crassostrea gigas* cultured using plastic mesh bags placed in the intertidal zone and observed that the number of blisters was lower than in those cultured under permanently submerged conditions. In fact, oyster

growers have found that air exposition of oysters during low tides is a natural way of controlling fouling organisms; this has been corroborated in studies on *C. gigas* cultured in the intertidal zone (Cáceres-Martínez and García-Bustamante 1987). In Alfonso, the sarta are entirely exposed to air during the lowest tides, whereas in Agromarinos the lower level of the sarta is always underwater. These differences in aerial exposure may explain the observed differences in prevalences of *Polydora sp.*

Mortality was not related to the presence of the *Polydora sp.*, only two dead oysters showed worm blisters covered with a gross shell secretion and without a worm. However, mortality was related with depth. Detritus produced by the oysters has resulted in a muddy bottom where organic degradation is common (Villareal-Chávez 1993). These conditions may be detrimental to oyster growth and survival. The Alfonso culture area is located near a tide channel where the water current is fast and may favor renewal or exchange of water near the bottom (Gosline and Stewart 1962). In contrast, Agromarinos is located near beds of sea grass (*Zostera marina* L.), where water exchange is low (Gosline and Stewart 1962). The high cumulative mortality values recorded suggest that further studies are necessary to determine its causes. Salinity and temperature have been reported as the primary factors for determining the abundance of *Polydora sp.* (Lauckner 1983). In the present study, these factors were similar in both sampling sites and the lower prevalence values occurred simultaneously with low temperatures.

From our observations, we can suggest oyster growers to place sarta in areas where the entire sarta remain exposed to air during low tides and to avoid locating oysters close to the bottom. Oysters reared in this manner had low prevalences of *Polydora sp.* and experienced low mortality relative to those reared under permanently submerged conditions. Further studies are required to determine optimal durations of air exposure during low tides.

Polydora sp. control is not only important because of the possible negative effect on the CI, it is also important for marketing. Worm blisters may affect the half-shell presentation, which is the most important market for oyster producers of Baja California.

ACKNOWLEDGMENTS

Dr. M. A. del Rio Portilla made comments on the manuscript and gave statistical advice. Dr. Victoria Díaz from the Ecology Department of CICESE confirmed the genus of the burrowing worm and Veronica Rodríguez gave specialized opinion on the possibility of a new worm species. K. Castañeda helped in sample processing; V. Guerrero and J. Guerrero from oyster culture company "Agromarinos" and Alfonso from oyster culture company "Alfonso" allowed and facilitated sampling in their installations. Ocean. R. García for helped in field sampling and for provided us with all the technical and biological information on the oyster culture in Bahía Falsa. L. Morales from the Library of CICESE for provided us with the bibliography. This work was supported by CICESE Project No. 623106.

LITERATURE CITED

- Aguirre, M. P. 1979. Biología del mejillón (*Mytilus edulis*) de cultivo de la Ria de Vigo. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 5:107-160.
- Blake, A. 1993. Family Spionidae Grube, 1850. pp. 81-223. In: Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel. Vol 6 The Annelida Part 3. Santa Barbara Museum of Natural History. Santa Barbara, California, USA.
- Cáceres-Martínez, C. & G. García-Bustamante. 1987. Cultivo piloto de ostión *Crassostrea gigas* T. en costales sobre estantes en la zona intermareal en la Bahía Magdalena, B. C. S.: influencia de la densidad sobre el crecimiento. VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada Baja California, México, 10 pp.
- Gee, F. M. & J. T. Davey. 1986. Experimental studies on the infestation of